Aus der Neurologischen Universitätsklinik und Poliklinik Würzburg

Direktor: Prof. Dr. med. H.G. Mertens

ZYTOCHEMISCHE FÄRBEREAKTIONEN IN DER LIQUORDIAGNOSTIK ENTZÜNDLICHER ERKRANKUNGEN DES ZENTRALNERVENSYSTEMS

I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n

verfaßt und der

Hohen Medizinischen Fakultät

der

Julius-Maximilians-Universität Würzburg

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde

vorgelegt von

Werner Josef Henkes

aus Deesen/Westerwald

Würzburg, den 6. Dezember 1979

1980

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543521_0101

Referent:	Prof. Dr. H.G. Mertens
Koreferent:	Prof. Dr. K.-A. Bushe
Dekan:	Prof. Dr. K.-H. Wulf

Tag der mündlichen Prüfung:

17. 7. 1980

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen
Fakultät der Universität Würzburg

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

INHALTSVERZEICHNIS

Seite

1. EINLEITUNG 1

2. MATERIAL UND METHODEN

2.1. LIQUORPROBEN 2

2.2. ZELLPRÄPARATION

2.3. FÄRBEMETHODEN

2.3.1. Routinefärbung nach May-Grünwald-Giemsa 3
2.3.2. Unspezifische Esterase-Reaktion mit α-Naphthyl-Acetat 4
2.3.3. Saure-Phosphatase-Reaktion 6
2.3.4. Peroxydase-Reaktion 7
2.3.5. PAS-Reaktion auf Polysaccharide 8

3. ERGEBNISSE

3.1. AKUTE LYMPHOZYTÄRE MENINGITIS 10

3.1.1. May-Grünwald-Giemsa (MGG)
3.1.2. Unspezifische Esterase
3.1.3. Saure Phosphatase 12
3.1.4. Peroxydase 13
3.1.5. PAS

3.2. AKUT/SUBAKUTE LYMPHOZYTÄRE MENINGITIS 13

3.2.1. MGG 15
3.2.2. Unspezifische Esterase
3.2.3. Saure Phosphatase
3.2.5. PAS 16

3.3. SUBAKUTE LYMPHOZYTÄRE MENINGITIS 16

3.3.1. MGG
3.3.2. Unspezifische Esterase
3.3.3. Saure Phosphatase 18

Seite

3.4. ABKLINGENDE LYMPHOZYTÄRE MENINGITIS 18

3.4.1. MGG
3.4.2. Unspezifische Esterase 20
3.4.3. Saure Phosphatase

3.5. VIRALE ENZEPHALITIS

3.5.1. MGG 22
3.5.2. Unspezifische Esterase
3.5.3. Saure Phosphatase
3.5.5. PAS 23

3.6. RABIES 23

3.6.1. MGG
3.6.2. Unspezifische Esterase
3.6.3. Saure Phosphatase 25

3.7. MULTIPLE SKLEROSE 25

3.7.1. MGG
3.7.2. Unspezifische Esterase
3.7.3. Saure Phosphatase 27
3.7.5. PAS

3.8. CHRONISCHE LYMPHOZYTÄRE MENINGITIS 27

3.8.1. MGG 29
3.8.2. Unspezifische Esterase
3.8.3. Saure Phosphatase
3.8.5. PAS

3.9. NEUROLUES 31

3.9.1. MGG 31
3.9.3. Saure Phosphatase

3.10. AKUTE TUBERKULÖSE MENINGITIS 31

3.10.1. MGG
3.10.2. Unspezifische Esterase 33
3.10.3. Saure Phosphatase
3.10.5. PAS

Seite

3.11. AKUT/SUBAKUTE TUBERKULÖSE MENINGITIS 33

3.11.1. MGG 35
3.11.2. Unspezifische Esterase
3.11.3. Saure Phosphatase
3.11.4. Peroxydase
3.11.5. PAS

3.12. SUBAKUTE TUBERKULÖSE MENINGITIS 36

3.12.1. MGG
3.12.2. Unspezifische Esterase
3.12.3. Saure Phosphatase 38
3.12.5. PAS

3.13. AKUTE BAKTERIELLE MENINGITIS 38

3.13.1. MGG
3.13.2. Unspezifische Esterase
3.13.3. Saure Phosphatase 40
3.13.4. Peroxydase

3.14. SUBAKUTE BAKTERIELLE MENINGITIS 40

3.14.1. MGG
3.14.2. Unspezifische Esterase
3.14.3. Saure Phosphatase 42
3.14.5. PAS

3.15. REPARATIONSSTADIUM VON BAKTERIELLEN MENINGITIDEN 42

3.15.1. MGG
3.15.2. Unspezifische Esterase
3.15.3. Saure Phosphatase 44

3.16. UNSPEZIFISCHE REIZSYNDROME 44

3.16.1. MGG
3.16.2. Unspezifische Esterase
3.16.3. Saure Phosphatase 46
3.16.5. PAS

4. D I S K U S S I O N 48

Seite

5. ZUSAMMENFASSUNG 57

6. LITERATURVERZEICHNIS 59

1. EINLEITUNG

In der liquorzytologischen Diagnostik sind verschiedene Enzymfärbungen und auch die Perjodsäure-Leukofuchsin-Reaktion bisher vorwiegend zur Diagnostik leukämischer Meningeopathien verwendet worden (Möbius et. al., 1971). Enzymzytochemische Färbungen wurden von Schwarze (1968, 1973) und Peiffer und Schwarze (1971) zu Untersuchungen über die Herkunft mononukleärer Liquorzellen verwendet. Scholz und Summer (1970) beschrieben charakteristisch wechselnde Peroxydase-Aktivitäten im Zytoplasma mononukleärer Liquorzellen bei verschiedenartigen Meningitiden. Olischer (1971, 1972, 1976) stellte für verschiedene entzündliche Prozesse oder Immunreaktionen innerhalb des Zentralnervensystems charakteristische zytochemische Eigenschaften der Liquorzellen zusammen.
In dieser Arbeit werden parallel zur klinischen Routinediagnostik angewandte Spezialfärbungen von Liquorzellen, Perjodsäure-Leukofuchsin (PAS), unspezifische Esterase, saure Phosphatase, Peroxydase, mit den Befunden an den nach May-Grünwald-Giemsa gefärbten Präparaten verglichen. Darüber hinaus soll eine Zuordnung der zytochemischen Befunde zu dem klinischen Krankheitsverlauf verschiedenartiger entzündlicher Erkrankungen des Zentralnervensystems versucht werden.

2. MATERIAL UND METHODEN

2.1. LIQUORPROBEN

Alle in dieser Arbeit untersuchten Zellpräparate wurden von Liquorproben angefertigt, die in der Routinediagnostik der Neurologischen und der Neurochirurgischen Universitätsklinik in einem Zeitraum von etwa 1 Jahr angefallen waren. Besonders ausgewählt wurden Liquorproben von verschiedenen entzündlichen Erkrankungen des Zentralnervensystems und von unspezifischen Reizsyndromen. Die Liquorzellzahlen von allen Proben wurden unmittelbar nach der Entnahme durch Lumbalpunktion in einer Fuchs-Rosenthal-Zellkammer bestimmt.

2.2. ZELLPRÄPARATION

Wir wenden die von Sayk (1954) entwickelte und von Bammer (1963/64) modifizierte Methode zur Herstellung von Zellpräparaten an. Dabei handelt es sich um eine Autosedimentierung des Liquors mit gleichmäßiger Beschleunigung der Zellsedimentierung. Die Liquorsäule steht in einem Tubus über dem Objektträger, auf dem sich ein in der Mitte perforiertes Filterpapier befindet. Der Durchmesser der Perforation beträgt 9 mm und entspricht dem Sedimentdurchmesser. Durch die Kapillarwirkung des Filters fließt der Liquor ab und läßt einen Großteil der Zellsedimente auf dem Objektträger zurück. Der Kapillardruck wird durch zwei runde, je 1/2 kg schwere Bleigewichte erhöht, die das Filterpapier auf den Objektträger pressen. Diese Gewichte haben ein zentrales Loch, in dem sich der oben erwähnte Plastiktubus mit dem Liquor befindet.
Um eine qualitativ ausreichende Auswertung zu ermöglichen, genügen bei einer Zellzahl von mehr als 30/mm^3 0,5 ml Liquor; bei geringerer Zellzahl wird 1 ml benötigt. Bei Pleozytosen mit Zellzahlen über 1500/mm^3 genügen 0,25 ml Liquor.
Die Sedimentationsdauer beträgt je nach Liquormenge 20, 30 oder 40 Minuten. Als weiteres Kriterium für den Abschluß der Sedimentation kann eine mattsilbrige Ober-

fläche des Sediments gelten.
Die auf diese Weise gewonnenen Sedimente werden luftgetrocknet und dann entsprechend den nachstehenden Methoden fixiert und eingefärbt.

2.3. FÄRBEMETHODEN

2.3.1. Routinefärbung nach May-Grünwald-Giemsa (MGG-Färbung)
nach Pappenheim

Es werden folgende Reagenzien benötigt:

- May-Grünwald-Lösung.
- Giemsa-Stammlösung.

Die luftgetrockneten Präparate werden mit May-Grünwald-Lösung (alkoholische Lösung von Eosin und Methylenblau) bedeckt. Die Farblösung soll genau 5 Minuten einwirken, wobei der Objektträger waagrecht auf dem Färbebänkchen liegen muß. Danach werden die Präparate unter Leitungswasser abgespült. Das Sediment sieht jetzt bläulich aus.

Die Färbung erfolgt ebenfalls auf dem Färbebänkchen durch Aufpipettieren der Giemsa-Lösung; Einwirkdauer 20 Minuten. Danach wird das Präparat mit Leitungswasser gespült und luftgetrocknet.

Zum Abschluß wird 1 Tropfen einer nichtsauren Decklösung auf das gefärbte Sediment gebracht und mit einem Deckglas abgedeckt.

Diese Färbung ist identisch mit derjenigen von Pappenheim, wie sie für Blutausstriche angewendet wird. - Das Zytoplasma ist blau, der Zellkern rot-violett gefärbt. Die Granula erscheinen jedoch nicht so intensiv wie bei Blutausstrichen.

Die Auswertung erfolgt in Teilen von 1 (z.B. für 4 % wird 0,04 angegeben).

2.3.2. Unspezifische Esterase-Reaktion mit α-Naphthylacetat (EST)
n. Löffler

An Reagenzien verwenden wir:

- Formalin 40 %
- Aceton p.a.
- α-Naphthylacetat p.a.
- Phosphatpuffer nach Sörensen 0,2 mol, pH 7,0 - 7,1.

Um diesen Puffer zu erhalten werden gemischt:

Lösung A: 27,234 g KH_2PO_4 (primäres K-Phosphat) in 1000 ml Aqua destillata
mit
Lösung B: 28,396 g Na_2HPO_4 (sekundäres Na-Phosphat
oder
35,602 g $Na_2HPO_4.2H_2O$ in 1000 ml Aqua destillata

und erhalten die Gebrauchslösung, pH 7,0 - 7,1, wenn wir 35 ml der Lösung A auffüllen ad 100 ml mit 65 ml der Lösung B.

- 4 %ige wässrige Nitritlösung.
- 4 %ige Pararosanilinlösung (z.B. "Merck" Art. Nr. 7601) werden durch leichtes Erhitzen in 50 ml 2n-HCl gelöst. Sofort nach Abkühlung filtrieren und in einer dunklen Flasche aufbewahren. Die Lösung sollte vor Gebrauch 3 Tage "reifen".

Die Natriumnitrit- und Pararosanilinlösungen sind im Kühlschrank bei 4°C mehrere Monate haltbar.

Die luftgetrockneten Präparate werden wie folgt weiterbehandelt:

a. Die Objektträger werden mit der Präparatseite nach unten für 5 Minuten über Formalindämpfen fixiert. Dazu wird auf dem Boden einer Petrischale mit Formalin getränktes Filterpapier gelegt. Auf das Filterpapier kommen kurze Glasstäbe und auf diese die Objektträger mit der Schichtseite nach unten. So wird verhindert, daß die Flüssigkeit das Sediment berührt. Die fixierten Präparate werden in mehrmals gewechseltem Leitungswasser und zweimal in Aqua destillata gespült und luftgetrocknet.

b. Ein Tropfen (ca. 0,05 ml) Natriumnitritlösung wird mit einem Tropfen Pararosanilinlösung vermischt und wenigstens eine Minute stehengelassen. Die entstehende hellgelbe Hexazoniumparosanilinlösung wird mit 5 ml Phosphatpuffer vermischt.

c. 10 mg α-Naphthylacetat werden in 0,3 ml Aceton vollständig gelöst und unter kräftigem Schütteln mit 20 ml Phosphatpuffer vermischt; schütteln bis die anfängliche Trübung verschwindet.

d. Die Lösungen b und c werden gemischt und in eine kleine Küvette gefiltert (=Inkubationslösung).

e. Die Präparate werden auf dem Färbebänkchen für 60 Minuten bei Zimmertemperatur mit der Inkubationslösung bedeckt und anschließend gründlich unter Leitungswasser gespült.

f. Die Kern-Nachfärbung erfolgt mit Hämalaun Mayer für 10 Minuten; in Leitungswasser wird darauf für mindestens 15 Minuten geblaut.

Die Präparate können sofort nach Lufttrocknung abgedeckt und ausgewertet werden.

Im Protoplasma der Zellen mit Esteraseaktivität entsteht ein brauner bis braunroter Farbstoff.

Dieser Farbstoff kann sich als homogene Färbung des Zytoplasma oder als stark gefärbte Granula manifestieren.

Bei der Auswertung werden als stark - (++) positiv solche Zellen bezeichnet, die mehr als 3 solcher Granula aufweisen bzw. deren Protoplasma insgesamt eine starke homogene Rotbraunfärbung zeigen. Als einfach - (+) positiv bewerten wir alle Zellen mit bis zu 3 Granula oder leichter bzw. nur angedeuteter Braunfärbung des Plasmas.

2.3.3. Saure Phosphatase-Reaktion (SP)
n. Löffler

Es werden folgende Reagenzien benötigt:

- Aceton 60 %.
- α-Naphthyl-As-Bi Phosphat ("Serva", Heidelberg, Art. Nr. 29 988), das im Kühlschrank bei -20°C aufzubewahren ist.
- Dimethylformamid p.a.
- 0,1 mol Michaelispuffer, pH 7,5 - 7,7:

  Lösung A: 20,6 g Veronalnatrium (Barbitalnatrium) in 1000 ml Aqua destillata.
  Lösung B: 0,1 n - HCl.

  Die Gebrauchslösung (Michaelispuffer) wird durch Vermischung von 61,5 ml der Lösung A und 38,5 ml der Lösung B erstellt.

- 4 %ige wässrige Natriumnitritlösung.
- 4 %ige Pararosanilinlösung (siehe unter 2.3.2.).
- Hämalaun Mayer.

a. Die luftgetrockneten Präparate werden in Aceton 60 % (Kühlschranktemperatur) für 5 Minuten fixiert, anschließend unter fließendem Leitungswasser gespült und erneut luftgetrocknet.

b. Reaktion: 0,4 ml Natriumnitritlösung und 0,4 ml

Pararosanilinlösung werden gemischt und für wenigstens 1 Minute stehengelassen. Die entstehende Hexazoniumpararosanilin-Lösung wird mit 30 ml Michaelispuffer verdünnt. 10 mg α-Naphthyl-As-Bi-Phosphat werden in 1 ml Dimethylformamidlösung gelöst. Diese Lösung wird unter Rühren in die Hexazoniumpararosanilin-Lösung pipettiert und in eine kleine Küvette filtriert, der pH mit 0,1 n-HCl auf 4,9 - 5,1 eingestellt. Die Präparate stellt man für 3 Stunden bei Zimmertemperatur in diese Inkubationslösung. Anschließend erfolgt gründliche Spülung in Leitungswasser und erneute Lufttrocknung.

c. Die Kernnachfärbung geschieht durch Überschichtung mit Hämalaun Mayer auf dem Färbebänkchen; anschließend Nachbläuen mit Leitungswasser für wenigstens 15 Minuten und schließlich Lufttrocknung.

Die Präparate können sofort nach Abdeckung ausgewertet werden.

Im Protoplasma der Zellen entsteht bei Phosphataseaktivität ein leuchtend roter, teils homogener, teils körniger Niederschlag.

Wir werten die Phosphatase-aktiven Zellen nach den gleichen Kriterien wie bei der unspezifischen Esterase-Reaktion aus (siehe unter 2.3.2.).

2.3.4. Peroxydase-Reaktion (POX)
n. Graham-Knoll

Wir verwenden folgende Reagenzien:

- 10 %iger Formalin-Alkohol.
- Peroxydase-Reagenz: 300 mg Benzidin p.a. (z.B. "Merck", Art. Nr. 1762) werden in einem Meßzylinder in 50 ml Alkohol 96 % gelöst. Dann werden

70 ml Aqua bidestillata und 0,24 ml 3 %iges H_2O_2 (im Kühlschrank aufbewahren) hinzugefügt. Das Peroxydase-Reagenz ist bei Zimmertemperatur und gut verschlossen ca. 2 - 3 Wochen haltbar und sollte bei Verwendung nicht braun gefärbt sein.

- Giemsa-Stammlösung.

a. Die frischen, luftgetrockneten Präparate werden auf dem Färbebänkchen mit 14 %igem Formalin-Alkohol 25 sec fixiert. Die Spülung sollte gut, aber ohne scharfen Wasserstrahl erfolgen, damit sich die nur kurzzeitig fixierten Zellen nicht ablösen; nicht trocknen.

b. Das Peroxydase-Reagenz wird sofort für 5 Minuten auf die noch feuchten Präparate gegossen. Anschließend erfolgt Spülung mit Leitungswasser und Lufttrocknung.

c. Die Giemsa-Färbung erfolgt durch Einstellen der Präparate in eine Küvette mit Giemsa-Stammlösung bzw. Überschichtung auf dem Färbebänkchen. Die Färbedauer beträgt 20 Minuten. Die Farblösung wird mit Leitungswasser aus- bzw. abgespült und die Präparate luftgetrocknet.

Die Peroxydase-positiven Zellen zeigen gelbbraune bis grünliche Granula bzw. homogene Färbung des Zytoplasmas.

Die Auswertungskriterien sind die gleichen wie bei der unspezifischen Esterase und der sauren Phosphatase (siehe unter 2.3.2. und 2.3.3.).

2.3.5. PAS-Reaktion auf Polysaccharide
n. Hotchkiss und McManus, Modifikation n. Merker

Verwendet werden folgende Reagenzien:

- 14 %iger Formalin-Alkohol.
- "Spülflüssigkeit": 0,45 %iges SO_2-(Sulfit-) Wasser:

200 ml Leitungswasser werden mit 10 ml n-Salzsäure und 10 ml 10 %iger Natriumbisulfitlösung vermischt. Das Gemisch ist jeweils frisch herzustellen und soll stark nach SO_2 (Schwefeldioxydwasser) riechen.

- Schiff's Reagens = fuchsinschweflige Säure.
- Harris' Hämatoxilin (Papanicolaou I, Merck Art. Nr. 9253).

Die lufttrockenen Präparate werden wie folgt weiterbehandelt:

a. Die Fixierung erfolgt für die Dauer von 5 Minuten in 14 %igem Formalin-Alkohol. Dann 1 Minute lang spülen mit Leitungswasser und anschließend lufttrocknen.

b. Einstellen für 10 Minuten in Perjodsäurelösung.

c. Einstellen für 5 Minuten in die Spülflüssigkeit.

d. Einstellen für 15 Minuten im Dunkeln bei Zimmertemperatur in Schiff's Reagens.

e. 3 Passagen zu je 2 Minuten in der Spülflüssigkeit; danach 10 Minuten spülen in fließendem Leitungswasser mit anschließender Lufttrocknung.

f. Einstellen für 2 - 3 Minuten in Harris' Hämatoxilin; Spülung mit Leitungswasser und Lufttrocknung.

Die PAS-Reaktion färbt die intrazellulär nur im Protoplasma als Granula, Schollen oder diffus vorkommenden Polysaccharide feurig rot und verschieden intensiv.

Unterscheidungskriterien wie bereits unter 2.3.2. - 2.3.4. erwähnt.

3. ERGEBNISSE

3.1. AKUTE LYMPHOZYTÄRE MENINGITIS

(Abb. 1, Abb. 17, Kolumne 1)

3.1.1. May-Grünwald-Giemsa:

In 14 Zellpräparaten von Liquorproben aus dem akuten Stadium lymphozytärer Meningitiden mit gesicherter oder wahrscheinlicher viraler Genese, die sämtlich über 300/3 Zellen enthalten hatten, fand sich im Mittel in der May-Grünwald-Giemsa-Färbung folgende Verteilung der einzelnen Zelltypen (in Anlehnung an die SI-Einheit für das Differentialblutbild in Teilen von 1 angegeben, z.B. für 4 %: 0,04 usw.): Polymorphkernige Leukozyten 0,03; Lymphozyten 0,71; Plasmazellen 0,06; Monozyten 0,18; Histiozyten 0,02. Maligne Zellen oder Malignom-verdächtige Zellen wurden in diesem Material nicht gefunden. Die Zelldifferenzierung der May-Grünwald-Giemsa gefärbten Präparate war ohne Schwierigkeit möglich.

3.1.2. Unspezifische Esterase:

Von allen 14 Fällen dieses Kollektivs lagen verwertbare Esterase-gefärbte Präparate vor. Nach rein morphologischen Kriterien (Größe und Form von Zelle und Zellkern), ohne Verwertung der spezifischen Anfärbung, ergab sich eine gleichartige Verteilung der einzelnen Zelltypen wie in den MGG-gefärbten Präparaten und zwar im einzelnen für polymorphkernige Leukozyten von 0,00 - 0,14 (im Mittel 0,04), bei den Lymphozyten von 0,57 - 0,88 (im Mittel 0,69), bei den Plasmazellen von 0,00 - 0,16 (im Mittel 0,07), bei den Monozyten von 0,10 - 0,28 (im Mittel 0,17), bei den Histiozyten von 0,00 - 0,14 (im Mittel 0,03). Polymorphkernige Leukozyten waren nicht angefärbt, nur sehr wenige Lymphozyten (5 %) zeigten eine schwach positive Reaktion, d.h. bis zu 3 eindeutig angefärbte Granula. Das Zytoplasma war nie homogen an-

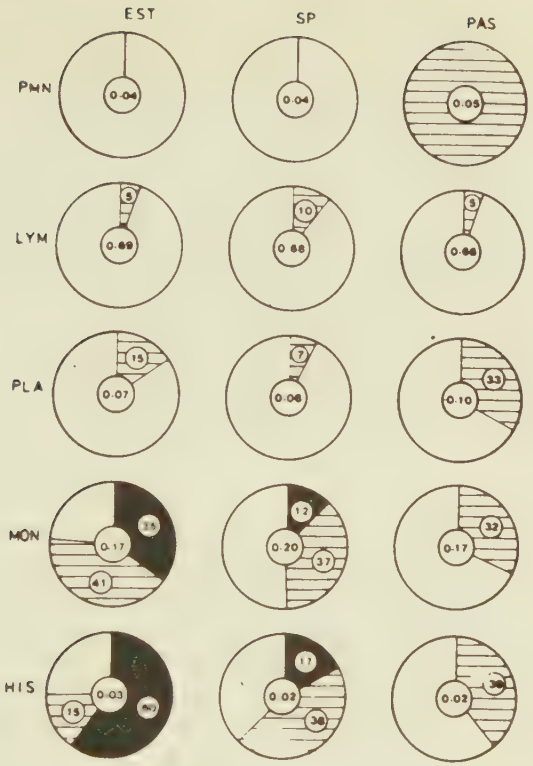

Abb. 1. Ergebnisse der zytochemischen Färbereaktionen von Liquorzellen bei akuter lymphozytärer Meningitis. Die Zellarten: polymorphenukleäre Leukozyten (PMN), Lymphozyten (LYM), Plasmazellen (PLA), Monozyten (MON) und Histiozyten (HIS) wurden in jeder Färbereaktion nach morphologischen Kriterien differenziert; ihr Anteil am Differentialzellbild wird in Teilen von 1 angegeben; die Mittelwerte finden sich in den inneren Kreisen der Abbildung. In den äußeren Kreisen werden die Mittelwerte der stark (schwarz markiert) gefärbten, schwach gefärbten (schraffiert) und negativen prozentualen Anteile jeder Zellart in jeder Färbereaktion angegeben. EST = unspezifische Esterase, SP = saure Phosphatase, PAS = Perjodsäure-Leukofuchsin-Reaktion, POX = Peroxydase.

gefärbt. Bei den Plasmazellen war dagegen gelegentlich eine leicht homogene Braunfärbung des Zytoplasmas zu beobachten, weniger die Färbung von Granula; 15 % der Plasmazellen zeigten, vorwiegend mit der homogenen Anfärbung, eine schwach positive Reaktion. Mehr als ein Drittel der Monozyten zeigte eine eindeutig positive Reaktion, eine stark homogene Anfärbung des Zytoplasmas oder aber eine Häufung von positiven Granula bei weniger homogen angefärbtem Zytoplasma. 41 % der Monozyten waren nur schwach positiv gefärbt. Am auffälligsten war die positive Färbereaktion der Histiozyten mit 60 % stark positiven und 15 % schwach positiv angefärbten Zellen. Das Zytoplasma war meist insgesamt kräftig braun bis rotbraun angefärbt. (Abb. 1).

3.1.3. Saure Phosphatase

10 mit dieser Reaktion angefärbte Präparate waren auszuwerten. Die nach den rein morphologischen Kriterien durchgeführte Zelldifferenzierung ergab eine gleichartige Verteilung wie in den MGG-gefärbten Präparaten, PMN 0,00 - 0,13 (im Mittel 0,04), Lymphozyten 0,56 - 0,95 (im Mittel 0,68), Plasmazellen 0,02 - 0,13 (im Mittel 0,06), Monozyten 0,03 - 0,33 (im Mittel 0,20) und Histiozyten 0,00 - 0,04 (im Mittel 0,02). Die Ergebnisse der Färbereaktion bei polymorphkernigen Leukozyten, Lymphozyten und Plasmazellen entsprachen denen der Esterase-Reaktion (Abb. 1). Die monozytären und histiozytären Zellformen waren zu einem geringeren Anteil stark positiv gefärbt und zwar zu 12 % Monozyten und 17 % Histiozyten. Bei diesen stark positiv angefärbten Zellformen fanden sich entweder leuchtend rot gefärbte Granula (mehr als drei) und/oder ein stellenweise homogen rosa bis rot gefärbtes Zytoplasma, dabei war die Anfärbung bei einigen Zellen grob schollig, bei anderen eher wolkig - verwaschen. Schwach positiv gefärbt waren 37 % der Monozyten und 38 % der Histiozyten (Abb. 1).

3.1.4. Peroxydase

Verwertbare Peroxydasefärbungen lagen von 2 Fällen vor. Morphologisch konnten in diesen Präparaten die gleichen Zelltypen in gleichartiger Verteilung wie in der Routinefärbung differenziert werden. In keinem Präparat waren Peroxydase-angefärbte Zellen nachzuweisen. Im gleichen Färbevorgang angefertigte andere Präparate wiesen jedoch eine Anfärbung auf, so daß die fehlende Reaktion nicht auf technische Mängel zurückzuführen ist.

3.1.5. PAS

8 PAS-gefärbte Präparate waren verwertbar; sie wiesen wie die anderen spezialgefärbten Präparate eine gleichartige Verteilung der verschiedenen Zelltypen auf (Abb. 1, 3. Kolumne, Zahlenangaben der inneren Kreise). Sämtliche nach morphologischen Kriterien erkennbare polymorphkernige Leukozyten wiesen eine schwach positive PAS-Reaktion auf. Dabei war das Zytoplasma fein granulär oder homogen blass-rosa angefärbt. 5 % der Lymphozyten wiesen einzelne (bis zu 3) rot angefärbte Granula auf. Ähnlich zeigte sich die schwach positive Reaktion von 33 % der dargestellten Plasmazellen mit wiederum bis zu 3 angefärbten Granula. Eine eher homogene Anfärbung des Zytoplasmas mit insgesamt schwach positiver Reaktion fand sich in etwa gleichen Anteilen von 32 % der Monozyten und 39 % der Histiozyten (Abb. 1, 3. Kolumne).

3.2. AKUT/SUBAKUTE LYMPHOZYTÄRE MENINGITIS

(Abb. 2, Abb. 17.2)

Im dieser Gruppe wurden Liquorzellpräparate von 3 Patienten zusammengefaßt, die nach der klinischen Symptomatik an einer akuten viralen Entzündung erkrankt waren, deren Liquorproben jedoch wesentlich geringere Zellzahlen als die Gruppe 3.1. zeigten. Die im folgenden aufgeführten

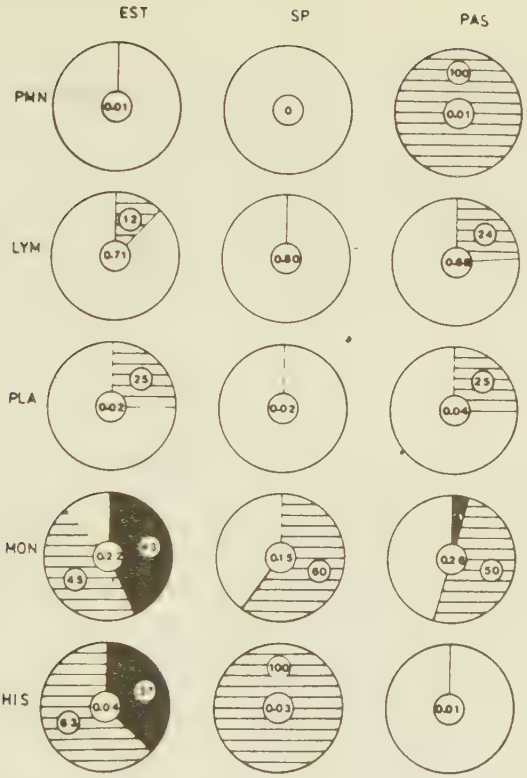

Abb. 2. Akut/subakute lymphozytäre Meningitis.

s. Legende von Abb. 1

Liquorproben enthielten im Mittel 100/3 Zellen.

3.2.1.

In der MGG-Färbung unterschied sich dieses Kollektiv nur unwesentlich von den unter 3.1. aufgeführten akuten lymphozytären Meningitiden, lediglich die Plasmazellen waren in einem geringeren Anteil von 0,02 vorhanden (Abb. 17,2. Kolumne). Die mononukleären Zelltypen unterschieden sich hinsichtlich der Morphologie (Größe und Form von Zellen und Zellkernen) nicht von denen des Kollektivs 3.1.

3.2.2.

Von allen 3 Proben lagen verwertbare Esterase-gefärbte Präparate vor, die eine gleiche Verteilung der Zelltypen aufwiesen wie die MGG-Präparate (innere Kreise der 1. Kolumne der Abb. 2). Die Art der schwach und stark positiven Anfärbung mononukleärer Zelltypen war gleichartig wie im Kollektiv 3.1. Die vereinzelt vorhandenen polymorphkernigen Zellen waren nicht angefärbt. Lymphozyten und Plasmazellen waren ähnlich wie im Kollektiv 3.1. angefärbt, wurden aber jeweils zu höheren prozentualen Anteilen von 12 und 25 % gefunden. Bei den Monozyten und Histiozyten fanden sich insgesamt noch weniger negative Reaktionen als in 3.1. Die Monozyten waren zu einem höheren prozentualen Anteil von 43 % stark und zu einem etwa gleichen Anteil von 45 % schwach angefärbt. Alle Histiozyten in diesen Präparaten wiesen eine positive Esterase-Reaktion auf, jedoch war der Anteil der stark positiv reagierenden Zellen mit 37 % deutlich geringer als der von 60 % im Kollektiv 3.1. (Abb.2).

3.2.3.

Von 1 Fall konnte eine verwertbare saure Phosphatase-Reaktion hergestellt werden; dieses Präparat

enthielt keine polymorphkernigen Leukozyten, jedoch in etwa gleichen Anzahlen wie in der MGG-Färbung die übrigen mononukleären Zelltypen. Die SP-Reaktion fiel insgesamt schwächer aus als im Mittel die SP-Reaktionen von Kollektiv 3.1. Stark positive Reaktionen waren überhaupt nicht nachweisbar; allerdings waren sämtliche Histiozyten des Präparates schwach positiv angefärbt, und ein größerer Anteil von 60 % der Monozyten hatte ebenfalls eine schwach positive Reaktion (Abb. 2).

3.2.3.

Von einer Liquorprobe war eine PAS-Reaktion vorhanden. Die in diesem Präparat vereinzelt dargestellten neutrophilen Granulozyten waren sämtlich schwach positiv. Jeweils ein Viertel, also ein deutlich höherer Anteil der Lymphozyten und Plasmazellen, reagierten ebenfalls schwach positiv in der PAS-Reaktion. Dabei war bei den Lymphozyten vor allem eine Anfärbung von Granula auffällig.
4 % der Monozyten zeigten eine stark positive Reaktion und 50 % eine schwach positive. Die vereinzelt vorhandenen Histiozyten waren sämtlich negativ. (Abb. 2).

3.3. SUBAKUTE LYMPHOZYTÄRE MENINGITIS

(Abb. 3, Abb. 17.3)

In diesem Kollektiv sind die Liquorproben von 6 Patienten zusammengefaßt, die sich sowohl nach der klinischen Symptomatik, wie auch nach dem liquorzytologischen und liquorchemischen Befund im subakuten Stadium einer lymphozytären Meningitis befanden. Die durchschnittliche Zellzahl betrug 200/3.

3.3.1.

In keinem der Präparate waren polymorphkernige Leukozyten vorhanden; die Lymphozyten waren mit

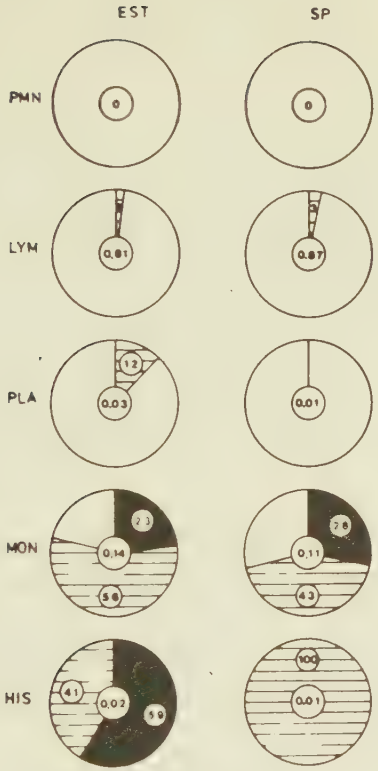

Abb. 3. Subakute lymphozytäre Meningitis

s. Legende von Abb. 1

0,85, die Plasmazellen mit 0,3, die Monozyten mit 0,11 und die Histiozyten mit 0,01 am Differenzialbild vertreten (Abb. 17.3).

3.3.2. (n = 6)

Von allen Proben lagen verwertbare Esterase-gefärbte Präparate vor, die nach morphologischen Kriterien eine gleichartige Verteilung der Zelltypen aufwiesen wie die MGG-Präparate (innere Kreise der Abb. 3). Nur 2 % der Lymphozyten waren schwach positiv gefärbt, dagegen 12 % der Plasmazellen. 56 % der Monozyten hatten schwach, 23 % stark positiv reagiert. Sämtliche vorhandenen Histiozyten zeigten eine positive Reaktion, 41 % schwach, 59 % stark. (Abb. 3).

3.3.3. (n = 3)

In der sauren Phosphatase-Reaktion waren 3 % der Lymphozyten schwach positiv angefärbt. Plasmazellen waren sämtlich negativ. Die Monozyten hatten zu 28 % stark, zu 43 % schwach positiv reagiert; sämtliche Histiozyten zeigten eine schwach positive Reaktion (Abb. 3).

3.4. ABKLINGENDE LYMPHOZYTÄRE MENINGITIS

(Abb. 4, Abb. 17.4)

Sowohl nach der klinischen Symptomatik wie auch nach dem Liquorbefund zeigten 9 Patienten, deren Proben im folgenden beschrieben werden, eine abklingende lymphozytäre Meningitis. Die durchschnittliche Zellzahl betrug noch 70/3.

3.4.1.

Im Mittel zeigten die Proben ein Differenzialzellbild von 0,76 Lymphozyten, 0,01 Plasmazellen, 0,21 Monozyten, 0,02 Histiozyten.

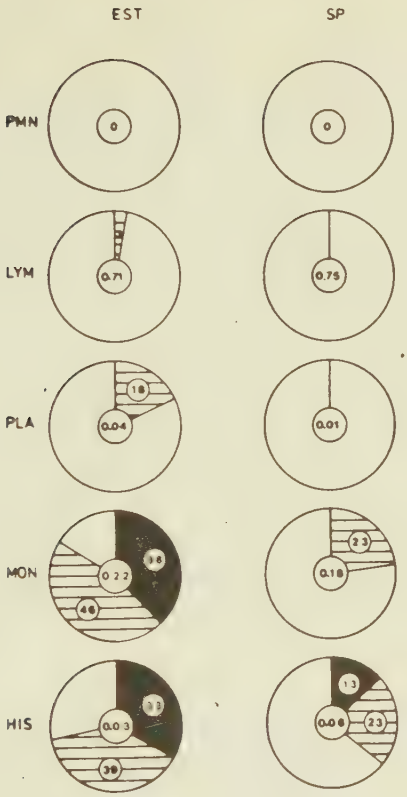

Abb. 4. Abklingende lymphozytäre Meningitis.

s. Legende von Abb. 1

3.4.2.

Von allen Proben (n = 9) lagen unspezifische Esterase-Reaktionen vor. Im Mittel enthielten diese Präparate mit 0,04 (0,00 - 0,12) mehr Plasmazellen als die MGG-Präparate. Die Verteilung der übrigen Zelltypen war mit 0,71 Lymphozyten, 0,22 Monozyten und 0,03 Histiozyten gleichartig. Lymphozyten und Plasmazellen waren mit 3 % und 18 % zu etwa gleichen Anteilen schwach positiv angefärbt, wie die vergleichbaren Zellformen des Kollektivs 3.3. Insgesamt zeigte sich die überwiegende Mehrheit der Monozyten zu einem etwas höheren Anteil als im Kollektiv 3.3. eine positive Reaktion, die stark positiven Monozyten waren mit 38 % auffällig, gegenüber 23 % vom Kollektiv 3.3. Bei den Histiozyten waren dagegen nur 33 % gegenüber 59 % der Zellen des Kollektivs 3.3. stark positiv angefärbt und ein etwa gleich hoher Anteil von 39 % schwach positiv, hier waren dagegen 28 % der Zellen negativ (Abb. 4).

3.4.3.

Saure Phosphatase-Reaktionen waren in 4 Präparaten auswertbar, in denen eine ganz gleichartige Verteilung der Zelltypen bestand wie in den MGG-Präparaten. Sämtliche Lymphozyten und Plasmazellen zeigten keine Reaktion, die Reaktion der Monozyten fiel viel schwächer aus als im Kollektiv 3.3. Bei den Histiozyten fanden sich zwar 13 % stark positive Zellen, jedoch nur 23 % schwach positive Zellen (Abb. 4).

3.5. VIRALE ENZEPHALITIS

(Abb. 5, Abb. 17.5)

Liquorproben von 11 Patienten, die Enzephalitiden mit gesicherter oder sehr wahrscheinlicher viraler Genese erkrankt, waren standen zur Verfügung. Die Proben wiesen
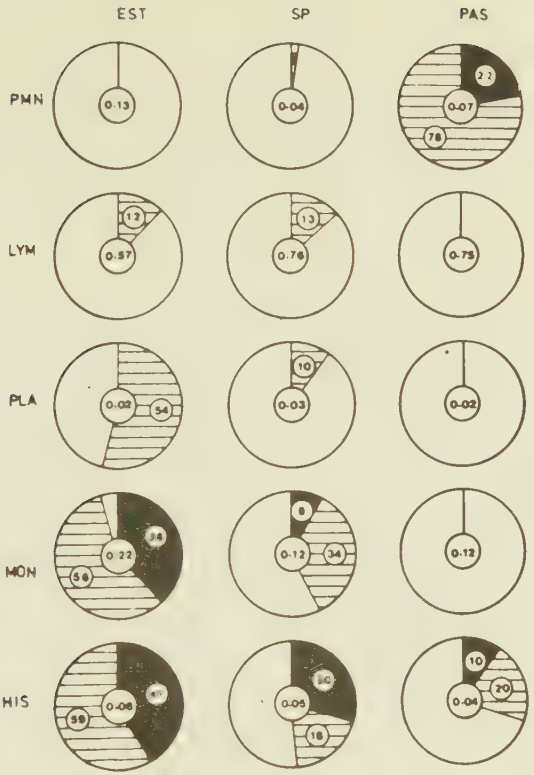
Abb. 5. Akute virale Enzephalitis.

s. Legende von Abb. 1

im Mittel eine Zellzahl von 51/3 auf.

3.5.1.

In der MGG-Färbung ließen sich 0,09 polymorphkernige Leukozyten, 0,65 Lymphozyten, 0,02 Plasmazellen, 0,20 Monozyten, 0,05 Histiozyten differenzieren (Abb. 17.5).

3.5.2.

Von 10 Proben lagen verwertbare Esterase-Reaktionen vor; die Verteilung der Zelltypen in den Präparaten war gleichartig wie in der MGG-Färbung, bis auf ein Präparat, das einen hohen Anteil von polymorphkernigen Zellen enthielt. In diesem, wie auch in den anderen Präparaten, in denen überhaupt polymorphkernige Zellen vorhanden waren, reagierten diese Zellen jedoch nicht. 12 % der Lymphozyten zeigten eine schwach positive Reaktion, dagegen ein augenfällig hoher Anteil von 54 % der Plasmazellen. Alle vorhandenen Histiozyten und fast alle vorhandenen Monozyten zeigten eine positive Reaktion; dabei etwa gleich hohe Anteile von 38 % Monozyten und 41 % Histiozyten sogar eine stark positive Reaktion (Abb. 5).

3.5.3.

Von 5 Proben konnten Reaktionen mit der sauren Phosphatase ausgewertet werden, wobei besonders auffällig eine schwach positive Anfärbung von 2 % der polymorphkernigen Zellen war. Die Lymphozyten waren mit 13 % ebenso häufig schwach positiv gefärbt wie in der Esterase-Reaktion. Die Plasmazellen reagierten zu 10 % schwach positiv. 8 % der Monozyten waren stark positiv angefärbt, 34 % schwach. Von den Histiozyten zeigten 30 % eine stark positive, 18 % eine schwach positive SP-Reaktion (Abb. 5).

3.5.5.

Zwei PAS-Reaktionen dieses Kollektivs enthielten jeweils 0,07 polymorphkernige Zellen, die sämtlich eine positive PAS-Reaktion zeigten und zwar zu 22 % eine starke, und zu 78 % eine schwache Färbung. Lymphozyten, Plasmazellen und Monozyten waren in diesen beiden Präparaten nicht angefärbt. 10 % der Histiozyten zeigten eine stark positive, 20 % eine schwach positive PAS-Reaktion (Abb. 5).

3.6. RABIES

(Abb. 6, Abb. 17.6)

Eine Liquorprobe aus dem fortgeschrittenen Stadium einer menschlichen Tollwut-Erkrankung (3 Wochen vor dem präfinalen Atemstillstand entnommen) stand für die Zelldifferenzierung zur Verfügung. Diese Probe enthielt 64/3 Zellen.

3.6.1.

In der MGG-Färbung fanden sich 0,43 polymorphkernige Zellen, 0,07 Lymphozyten, 0,03 auffällig große und zum Teil zweikernige Plasmazellen, 0,33 Monozyten und 0,04 Histiozyten (Abb. 17.6).

3.6.2.

In der unspezifischen Esterase-Reaktion waren, wie in den übrigen Krankheitskollektiven, sämtliche polymorphkernigen Leukozyten negativ. Das Esterase-gefärbte Präparat enthielt mit 0,22 wesentlich mehr Lymphozyten als das MGG-Präparat. 23 % dieser Lymphozyten waren schwach positiv gefärbt, sowohl mit schwach homogener Anfärbung des Zytoplasma, wie mit zum Teil perlschnurartig dunkelbraun angefärbten Granula. Sämtliche Plasmazellen waren schwach homogen bzw. fein granulär gefärbt. Die überwiegende Mehrheit der Monozyten (85 %) zeigte eine

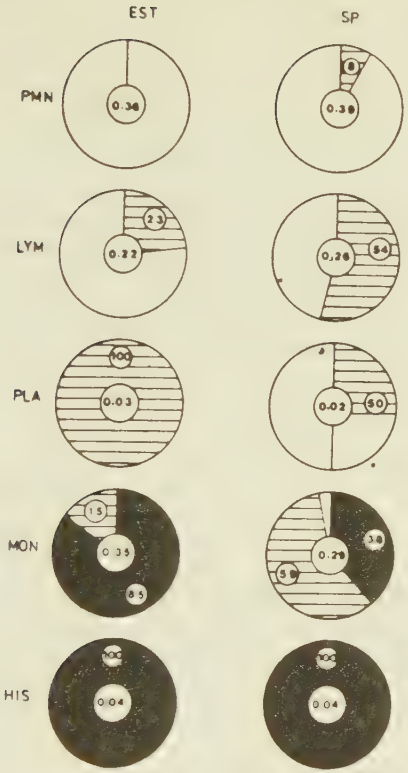

Abb. 6. Rabies.

s. Legende von Abb. 1

stark positive Reaktion, die übrigen 15 % waren schwach positiv. Sämtliche Histiozyten waren stark positiv.

3.6.3.

In der sauren Phosphatase-Reaktion war die Verteilung der Zelltypen ähnlich wie in der Esterase-Reaktion. 8 % der polymorphkernigen Zellen, 54 % der Lymphozyten und 50 % der Plasmazellen zeigten eine schwache Reaktion. Fast alle Monozyten hatten positiv reagiert, jedoch nur 38 % stark positiv. Die Anfärbung der Histiozyten war ebenso auffällig wie in der Esterase-Reaktion, mit zu 100 % stark positiven Zellen (Abb. 6).

3.7. MULTIPLE SKLEROSE

(Abb. 7, Abb. 17.7)

Liquorproben von 14 Multiple Sklerose-Patienten, die sich sämtlich im akuten oder subakuten Schub ihrer Erkrankung befanden, enthielten im Mittel 61/3 Zellen.

3.7.1.

In der May-Grünwald-Giemsa Färbung waren im Mittel 0,02 polymorphkernige Leukozyten, 0,74 Lymphozyten, 0,03 Plasmazellen, 0,20 Monozyten und 0,01 Histiozyten nachweisbar (Abb. 17.7).

3.7.2. (n = 14)

Von allen Proben lagen verwertbare Esterase-Reaktionen vor. Diese Präparate enthielten im Mittel nur 0,01 polymorphkernige Leukozyten mit einer Verteilung von 0,00 - 0,07. Die Verteilung der übrigen Zelltypen entsprach ebenfalls den MGG-Präparaten. Die polymorphkernigen Leukozyten zeigten keine Reaktion. 12 % der Lymphozyten und

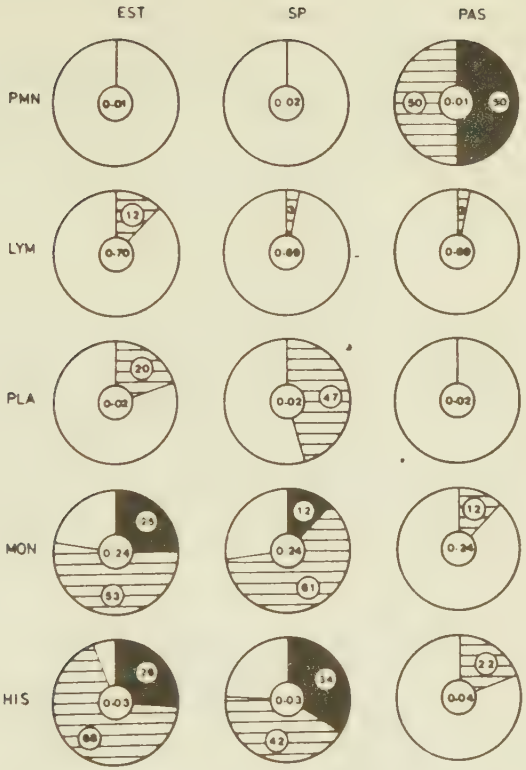

Abb. 7. Multiple Sklerose.

s. Legende von Abb. 1

20 % der Plasmazellen waren schwach positiv angefärbt. Die Lymphozyten waren mit vereinzelten positiven Granula, wie auch mit schwach homogener Anfärbung dargestellt. Monozyten und Histiozyten waren jeweils etwa zu einem Viertel stark positiv dargestellt, 53 % der Monozyten und 68 % der Histiozyten reagierten zudem schwach positiv (Abb. 7).

3.7.3.

In den 3 Präparaten der SP-Reaktion, in denen die Zelltypen ähnlich verteilt waren wie in den MGG-Präparaten, fanden sich 3 % schwach positive Lymphozyten. Auffällig ein hoher Anteil von 47 % von schwach positiven Plasmazellen. Es wurden außerdem 12 % stark und 61 % schwach positive Monozyten, 34 % stark und 42 % schwach positive Histiozyten gefunden (Abb. 7).

3.7.5.

In der PAS-Reaktion, die von 3 Präparaten vorlag, waren die einzelnen Zelltypen gleichartig wie in den übrigen Färbereaktionen verteilt. Die polymorphkernigen Leukozyten waren jeweils zur Hälfte stark und schwach positiv dargestellt. 3 % der Lymphozyten enthielten PAS-positive Granula. Plasmazellen waren nicht angefärbt. 12 % der Monozyten und 22 % der Histiozyten zeigten eine schwach positive Reaktion (Abb. 7).

3.8. CHRONISCHE LYMPHOZYTÄRE MENINGITIS

(Abb. 8, Abb. 17.8)

8 Liquorproben wurden im Verlauf von chronisch proliferativen lymphozytär/plasmozytären Meningitiden ohne Nachweis einer Erregerpersistenz entnommen. Bei sämtlichen Patienten war diese Erkrankung schon längere Zeit bekannt; die Liquorproben wurden im Rahmen der Verlaufs-Kontrolle gewonnen. Sie enthielten im Mittel 42/3 Zellen.

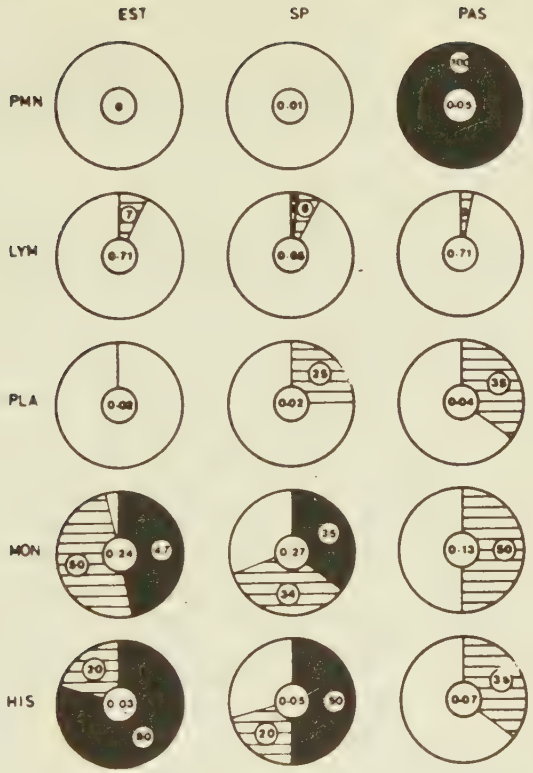

Abb. 8. Chronische lymphozytäre Meningitis.

s. Legende von Abb. 1

3.8.1.

In der MGG-Färbung fanden sich 0,01 polymorphkernige Leukozyten, 0,70 Lymphozyten, 0,03 Plasmazellen, 0,20 Monozyten, 0,06 Histiozyten (Abb. 17.8).

3.8.2.

In den 7 Esterase-Präparaten fanden sich keine polymorphkernigen Leukozyten. Die übrigen mononukleären Zelltypen fanden sich in gleicher Verteilung wie bei der MGG-Färbung. Die Lymphozyten in einer Verteilungsbreite von 0,49 - 0,80 und einem Mittel von 0,71 zeigten nur bei 7 % schwach positive Reaktionen. Die Plasmazellen bei einer Verteilungsbreite von 0.00 - 0,70 Zellen und einem Mittel von 0,02 waren alle Esterase-negativ. Die Monozyten mit einer Verteilungsbreite von 0,07 - 0,50 und einem Mittelwert von 0,24 Zellen hatten 50 % schwach positive und 47 % stark positive Esterase-Reaktionen. Die Histiozyten waren bei einem Mittelwert von 0,03 mit 20 % schwach und 80 % stark positiv (Abb. 8, Kolumne 1).

3.8.3.

Es kamen 6 Präparate mit saurer Phosphatase positiven Reaktionen zur Auswertung. Das Verteilungsbild der Zellen gleicht dem der MGG-Färbung. Die polymorphkernigen Leukozyten sind alle negativ. Bei den Lymphozyten ergeben 6 % schwach positive und 1 % stark positive Phosphatase-Reaktionen. Die Plasmazellen sind zu genau 1 Viertel schwach positiv. Die Monozyten zeigen dagegen mit 34 % schwach und 35 % stark positive Reaktion. Bei den Histiozyten sind 20 % schwach und 50 % stark positiv (Abb. 8, Kolumne 2).

3.8.5.

Bei der PAS-Reaktion kommen 2 Präparate zur Auswertung. Alle polymorphkernigen Leukozyten sind stark positiv. Von den Lymphozyten sind 3 %,

Abb. 9. Neurolues.

s. Legende von Abb. 1

von den Plasmazellen 35 %, von den Monozyten 50 % und von den Histiozyten 35 % schwach positiv (Abb. 8).

3.9. NEUROLUES

Zur Zelldifferenzierung stand die Liquorprobe eines Patienten mit Lues cerebro-spinalis zur Verfügung, die 62/3 Zellen enthielt.

3.9.1.

In der MGG-Färbung fanden sich keine polymorphkernigen Leukozyten, 0,66 Lymphozyten, 0,01 Plasmazellen, 0,30 Monozyten und 0,03 Histiozyten (Abb. 17.9).

3.9.3.

In der SP-Reaktion, die im Gegensatz zur MGG-Färbung 0,01 polymorphkernige Leukozyten und die übrigen mononukleären Zellen etwa in gleichartiger Verteilung wie die MGG-Reaktion enthielt, fanden sich schwach positiv lediglich 11 % Monozyten und 33 % Histiozyten dargestellt (Abb. 9).

3.10. AKUTE TUBERKULÖSE MENINGITIS

(Abb. 10, Abb. 17.10)

Aus dem hochakuten Stadium von tuberkulösen Meningitiden standen 2 Liquorproben zur Verfügung, die jeweils mehr als 1000/3 Zellen enthielten, im Mittel 1350/3.

3.10.1.

In der May-Grünwald-Giemsa Färbung fanden sich im Mittel 0,81 polymorphkernige Leukozyten, 0,11 Lymphozyten, 0,01 Plasmazellen, 0,07 Monozyten und keine Histiozyten (Abb. 17.10).

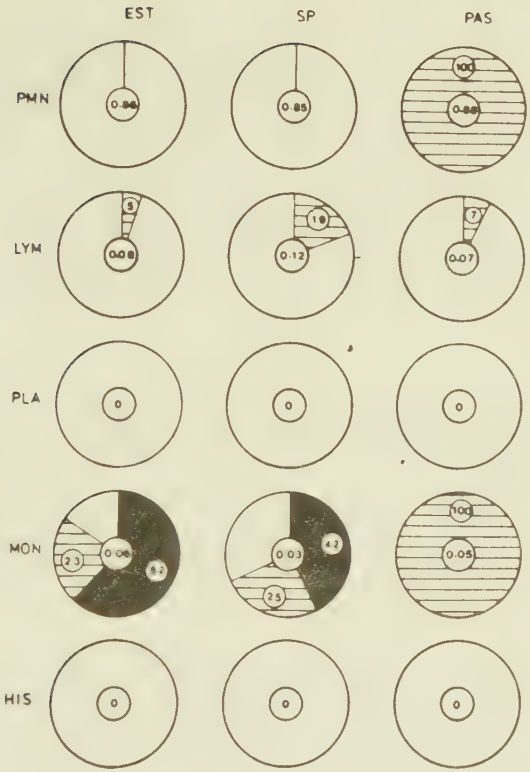

Abb. 10. Akute tuberkulöse Meningitis.

s. Legende von Abb. 1

3.10.2.

In den beiden Präparaten mit unspezifischen Esterase-Reaktionen waren sämtliche dargestellten polymorphkernigen Leukozyten negativ, der Mittelwert mit 0,86 etwas höher als bei der MGG-Färbung. Die Lymphozyten zeigten zu 5 % eine schwach positive Reaktion, Plasmazellen und Histiozyten waren in den beiden Präparaten nicht vorhanden. Die Monozyten zeigten zu 62 % eine stark positive, zu 23 % eine schwach positive Reaktion (Abb. 10).

3.10.3.

In den beiden Präparaten der SP-Reaktion waren sämtliche polymorphkernigen Leukozyten negativ. Die Lymphozyten waren zu 19 % schwach positiv angefärbt. Wiederum waren keine Plasmazellen oder Histiozyten dargestellt. Monozyten waren zu 42 % stark, zu 25 % schwach positiv gefärbt. (Abb. 10).

3.10.5.

In der PAS-Reaktion fanden sich in 2 Präparaten wiederum keine Plasmazellen oder Histiozyten. Die in einem Mittelwert von 0,88 dargestellten polymorphkernigen Leukozyten waren sämtlich schwach positiv gefärbt, 7 % der Lymphozyten zeigten PAS-positive Granula. Sämtliche Monozyten waren überwiegend homogen bzw. fein granuliert schwach gefärbt.(Abb. 10).

3.11. AKUT/SUBAKUTE TUBERKULÖSE MENINGITIS

(Abb. 11, Abb. 17.11)

10 Liquorproben wurden von Patienten im Übergang vom akuten zum subakuten Stadium einer tuberkulösen Meningitis gewonnen. Die Proben enthielten zwischen 100/3 und 1000/3 Zellen, im Mittel 300/3.

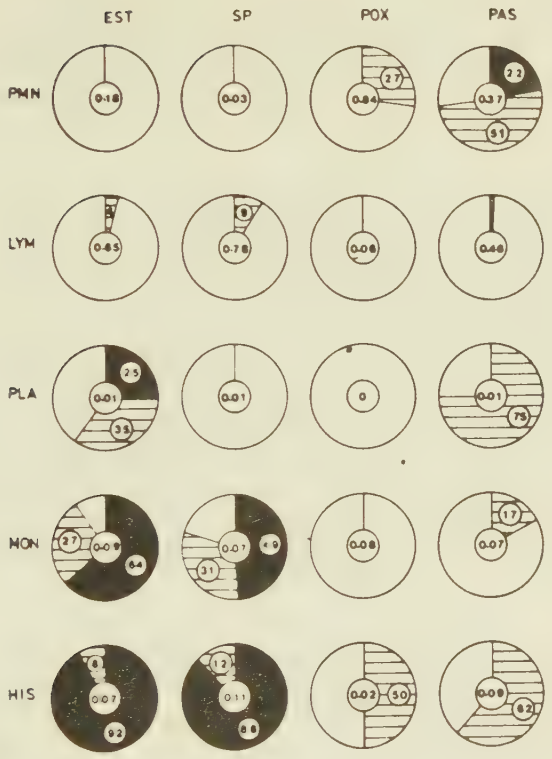

Abb. 11. Akut/subakute tuberkulöse Meningitis.

s. Legende von Abb. 1

3.11.1.

Die Zelltypen waren wie folgt verteilt: 0,18 polymorphkernige Leukozyten, 0,65 Lymphozyten, 0,01 Plasmazellen, 0,09 Monozyten und 0,07 Histiozyten (Abb. 17.11).

3.11.2.

In 9 Esterase-Präparaten war eine völlig identische Verteilung der Zelltypen wie in der MGG-Reaktion nachweisbar. Die polymorphkernigen Leukozyten waren sämtlich nicht angefärbt. Von den Lymphozyten waren 4 % schwach positiv dargestellt. Auffällig war ein hoher Anteil angefärbter Plasmazellen: mit 25 % stark und 33 % schwach positiver Reaktion. Die überwiegende Mehrzahl von Monozyten und Histiozyten war ebenfalls positiv dargestellt, 24 % stark positive Monozyten, 27 % schwach positive und 91 % stark positive Histiozyten und nur 8 % schwach positive (Abb. 11).

3.11.3.

In der sauren Phosphatase-Reaktion zeigte sich in 4 Präparaten ein geringerer Anteil von polymorphkernigen Leukozyten, die sämtlich nicht angefärbt waren. Die in diesen Präparaten im Mittel mit höheren Anteilen vertretenen Lymphozyten waren zu 9 % schwach positiv angefärbt; die Plasmazellen zeigten keine positive Reaktion. Etwa die Hälfte der Monozyten reagierte stark, 31 % schwach positiv. Wie in der Esterase-Reaktion, war die überwiegende Mehrheit der Histiozyten stark positiv, ein kleinerer Anteil von 12 % reagierte schwach positiv (Abb. 11).

3.11.4.

1 Präparat einer Peroxydase-Reaktion enthielt 0,84 polymorphkernige Leukozyten, von denen 27 %

schwach positiv angefärbt waren, die wenigen Lymphozyten und Monozyten waren sämtlich nicht angefärbt, Plasmazellen waren in diesem Präparat nicht vorhanden. Histiozyten waren zu 50 % schwach positiv angefärbt. (Abb. 11).

3.11.5.

In 4 Präparaten der PAS-Reaktion fanden sich im Mittel 0,37 polymorphkernige Leukozyten, von denen 22 % stark und 51 % schwach positiv dargestellt waren. Die mit einem Anteil von 0,46 vorhandenen Lymphozyten waren nur zu 1 % schwach positiv dargestellt; bei den vereinzelt vorhandenen Plasmazellen waren immerhin 3/4 schwach positiv angefärbt. 17 % der Monozyten und 62 % der Histiozyten zeigten eine schwach positive PAS-Reaktion (Abb. 11).

3.12. SUBAKUTE TUBERKULÖSE MENINGITIS

(Abb. 12, Abb. 17.12)

6 Liquorproben von subakuter tuberkulöser Meningitis enthielten im Mittel ca. 100/3 Zellen.

3.12.1.

In der MGG-Färbung waren 0,12 polymorphkernige Leukozyten, 0,76 Lymphozyten, 0,03 Plasmazellen, 0,07 Monozyten und 0,02 Histiozyten nachweisbar (Abb. 17.12).

3.12.2.

In 5 EST-Präparaten war die Verteilung der Zelltypen im Mittel so wie in der MGG-Färbung, sämtliche polymorphkernigen Leukozyten waren nicht angefärbt, 1 % der Lymphozyten zeigte eine schwach positive Reaktion. Auffällig war die stark posi-

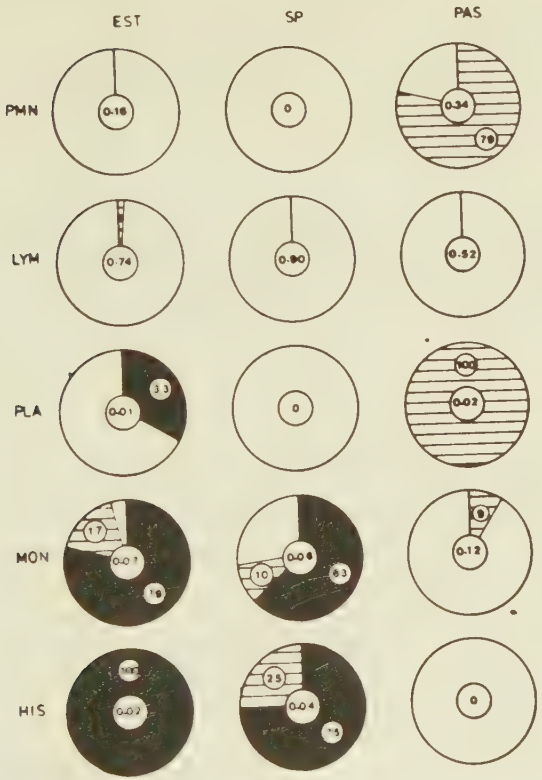

Abb. 12. Subakute tuberkulöse Meningitis.

s. Legende von Abb. 1

tive Reaktion von 33 % Plasmazellen. Monozyten waren überwiegend angefärbt und zwar zu 79 % stark und zu 17 % schwach positiv, die Histiozyten waren zu 100 % stark positiv (Abb. 12).

3.12.3.

In der SP-Reaktion waren in 2 Präparaten keine polymorphkernigen Leukozyten und keine Plasmazellen vorhanden. Die dargestellten Lymphozyten waren sämtlich negativ. Die überwiegende Mehrzahl der Monozyten und Histiozyten reagierte stark positiv (Abb. 12).

3.12.5.

In einem Präparat einer PAS-Reaktion waren viele polymorphkernige Leukozyten (0,34) vorhanden, die zu 79 % schwach positiv reagierten. Die Lymphozyten zeigten sämtlich keine positive PAS-Reaktion, dagegen alle vereinzelt vorkommenden Plasmazellen. 9 % der Monozyten waren schwach angefärbt, Histiozyten waren in dem Präparat nicht vorhanden (Abb. 12).

3.13. AKUTE BAKTERIELLE MENINGITIS

(Abb. 13, Abb. 17.13)

2 Liquorproben wurden im akuten Stadium bakterieller Meningitiden gewonnen, die Zellzahlen lagen bei 10 000/3.

3.13.1.

In der MGG-Reaktion fanden sich 0,80 polymorphkernige Leukozyten, 0,06 Lymphozyten, 0,10 Monozyten und 0,04 Histiozyten (Abb. 17.13).

3.13.2.

Die unspezifische Esterase-Reaktion einer Probe

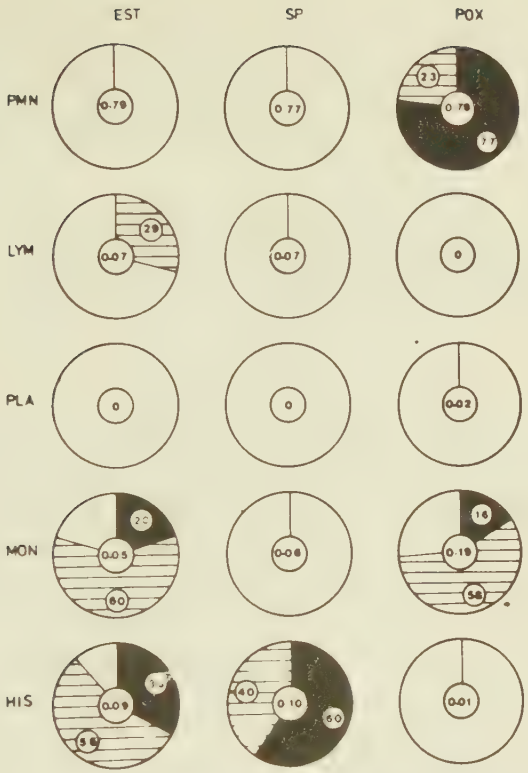

Abb. 13. Akute bakterielle Meningitis.

s. Legende von Abb. 1

zeigte alle polymorphkernigen Leukozyten Esterase-negativ, 29 % schwach positive Lymphozyten, überwiegend schwach positive Monozyten (60 %) und Histiozyten (56 %), die zudem in Anteilen von 20 % und 33 % stark positiv dargestellt waren (Abb. 13).

3.13.3.

In einem Präparat einer sauren Phosphatase-Reaktion waren lediglich die Histiozyten angefärbt und zwar zu 60 % stark, zu 40 % schwach positiv (Abb. 13).

3.13.4.

In der Peroxydase-Reaktion zeigte sich in einem Präparat eine überwiegend stark positive Reaktion der polymorphkernigen Leukozyten (77 %), die restlichen 23 % waren schwach positiv angefärbt. Die mononukleären Zellen waren bis auf 16 % stark positive und 58 % schwach positive Monozyten nicht angefärbt (Abb. 13).

3.14. SUBAKUTE BAKTERIELLE MENINGITIS

(Abb. 14, Abb. 17.14)

2 Liquorproben waren im subakuten Stadium einer bakteriellen Meningitis gewonnen worden und wiesen Zellzahlen um 500/3 auf.

3.14.1.

In der MGG-Färbung: 0,58 polymorphkernige Leukozyten, 0,14 Lymphozyten, 0,02 Plasmazellen, 0,15 Monozyten und 0,11 Histiozyten (Abb. 17.14).

3.14.2.

In 1 Präparat mit EST-Reaktion waren keine Plasmazellen vorhanden. Die Lymphozyten waren zu 29 % schwach positiv; Monozyten zu 13 % stark, zu 75 % schwach positiv. Sämtliche Histiozyten waren

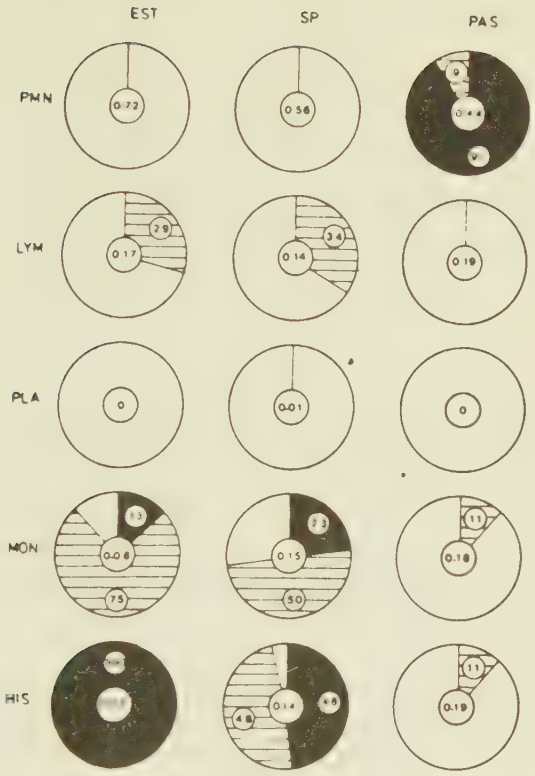

Abb. 14. Subakute bakterielle Meningitis.

s. Legende von Abb. 1

stark positiv dargestellt, die polymorpkernigen Leukozyten alle negativ (Abb. 14).

3.14.3.

In den beiden SP-Reaktionen waren sämtliche polymorphkernigen Leukozyten negativ. 34 % der Lymphozyten reagierten schwach positiv; die Plasmazellen sämtlich negativ. 23 % der Monozyten waren stark, 50 % schwach angefärbt. Die überwiegende Mehrzahl der Histiozyten war angefärbt, jeweils zur Hälfte schwach und stark positiv (Abb. 14).

3.14.5.

In der PAS-Reaktion (n=1) zeigten sich fast alle polymorphkernigen Leukozyten stark angefärbt. Von den übrigen Zellen reagierten nur jeweils 11 % der Monozyten und Histiozyten schwach positiv (Abb. 14).

3.15. REPARATIONSSTADIUM VON BAKTERIELLEN MENINGITIDEN

(Abb. 15, Abb. 17.15)

2 Liquorproben aus dem Reparationsstadium bakterieller Meningitiden enthielten etwa 40/3 Zellen. Die klinische Symptomatik dieser Erkrankungen war völlig abgeklungen.

3.15.1.

In der MGG-Reaktion fanden sich noch 0,04 polymorphkernige Leukozyten, vorwiegend Lymphozyten (0,72), 0,01 Plasmazellen, 0,20 Monozyten und 0,03 Histiozyten (Abb. 17.15).

3.15.2.

In den beiden EST-Reaktionen waren die polymorphkernigen Leukozyten sämtlich negativ, 3 % der Lymphozyten und 50 % der Plasmazellen schwach positiv,

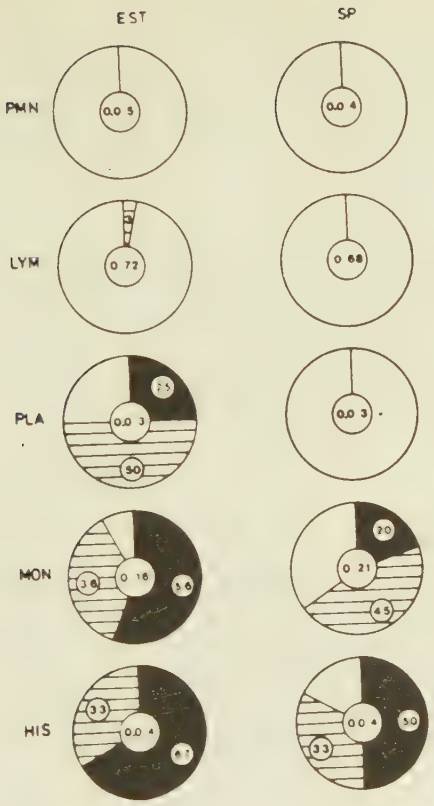

Abb. 15. Reparationsstadium von bakteriellen Meningitiden

s. Legende von Abb. 1

1/4 der Plasmazellen zeigte eine stark positive Reaktion. Mehr als die Hälfte der Monozyten und Histiozyten war stark, jeweils etwa 1/3 schwach angefärbt (Abb. 15).

3.15.3.

In der SP-Reaktion fand sich in beiden Präparaten keine positive Reaktion von polymorphkernigen Leukozyten, Lymphozyten oder Plasmazellen. Die Monozyten waren zu 20 %, die Histiozyten zu 50 % stark positiv, 45 % der Monozyten und 33 % der Histiozyten hatten schwach positiv reagiert (Abb. 15).

3.16. UNSPEZIFISCHE REIZSYNDROME

(Abb. 16, Abb. 17.16)

6 Liquorproben entstammten Patienten mit unterschiedlichen Krankheitsbildern, die sämtlich zu einem unspezifischen Reizsyndrom im Liquorraum geführt hatten. Dabei handelte es sich um 2 Proben von Bandscheibenvorfällen und jeweils 1 Probe von Zustand nach Shunt-Operation, Zustand nach Thympanoplastik, vestibulärem Schwindel und generalisiertem Anfallsleiden.

3.16.1.

In der MGG-Färbung enthielt keines dieser Präparate polymorphkernige Leukozyten. Es fanden sich zur Hälfte Lymphozyten und zur anderen Hälfte die übrigen mononukleären Zellformen: 0,02 Plasmazellen, 0,40 Monozyten und 0,08 Histiozyten (Abb. 17.16).

3.16.2.

In den 6 EST-Reaktionen waren 8 % der Lymphozyten schwach positiv dargestellt. Die in einer Schwankungsbreite von 0,00 - 0,05 vorhandenen Plasmazellen zeigten im Mittel zu 5 % eine stark

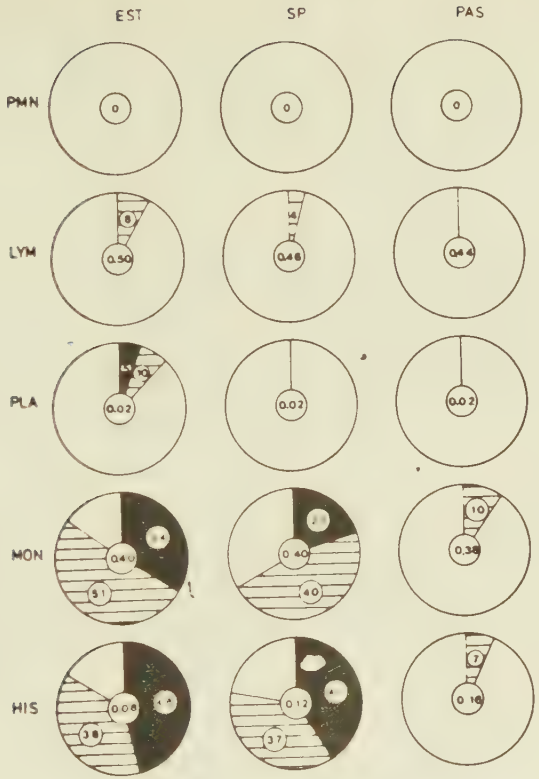

Abb. 16. Unspezifische Reizsyndrome.

s. Legende von Abb. 1

positive, zu 10 % eine schwach positive EST-Reaktion. Etwa ein Drittel der Monozyten und die Hälfte der Histiozyten zeigte eine stark positive, die Hälfte der Monozyten und gut ein Drittel der Histiozyten eine schwach positive EST-Reaktion (Abb. 16).

3.16.3.

In der sauren Phosphatase-Reaktion fand sich in 4 Präparaten bei den Lymphozyten eine schwach positive Reaktion in 4 %, bei den Monozyten reagierten 40 % schwach, 20 % stark positiv; bei den Histiozyten waren 41 % stark, 37 % schwach angefärbt (Abb. 16).

3.16.5. (n = 2)

In der PAS-Reaktion waren lediglich 10 % der Monozyten und 7 % der Histiozyten schwach angefärbt. Polymorphkernige Leukozyten waren nicht vorhanden, die übrigen Zelltypen nicht angefärbt (Abb. 16)

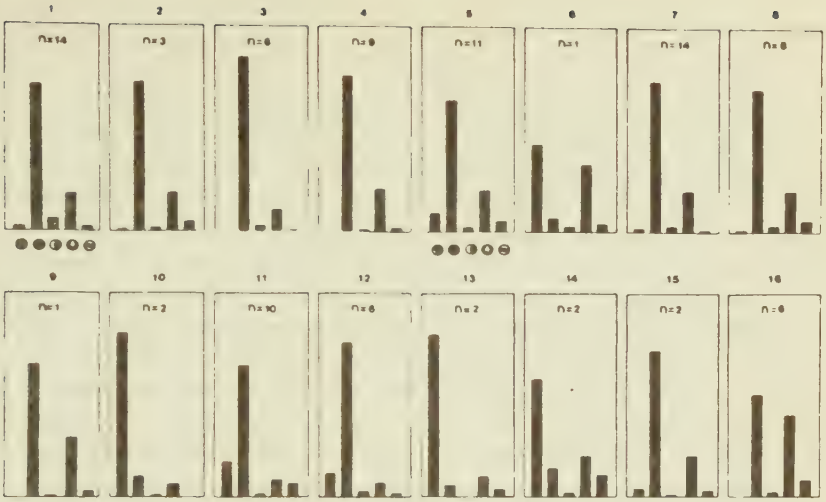

Abb. 17.: Ergebnisse der Zelldifferenzierung der nach May-Grünwald-Giemsa gefärbten Präparate von Liquorproben von 16 verschiedenen Krankheitsbildern.

1. Akute lymphozytäre Meningitis
2. Akut/subakute lymphozytäre Meningitis
3. Subakute lymphozytäre Meningitis
4. Abklingende lymphozytäre Meningitis
5. Akute virale Enzephalitis
6. Rabies
7. Multiple Sklerose
8. Chronische lymphozytäre Meningitis
9. Neurolues
10. Akute tuberkulöse Meningitis
11. Akut/subakute tuberkulöse Meningitis
12. Subakute tuberkulöse Meningitis
13. Akute bakterielle Meningitis
14. Subakute bakterielle Meningitis
15. Reparationsstadium von bakteriellen Meningitiden
16. Unspezifische Reizsyndrome

Die Säulen zeigen jeweils in der Reihenfolge von links nach rechts die Mittelwerte der prozentualen Anteile von polymorphkernigen Leukozyten, Lymphozyten, Plasmazellen, Monozyten und Histiozyten, die symbolisch gekennzeichnet sind.

n = Anzahl der Liquorproben.

4. DISKUSSION

Die im Rahmen dieser Untersuchung zusätzlich zu der Routinefärbung (MGG) verwendeten enzymzytochemischen Färbereaktionen sowie die PAS-Reaktion sind teilweise recht aufwendig, in der praktisch-klinischen Diagnostik können sie kaum als Standardmethoden zur Anwendung kommen. Nach einer Reihe von Vorversuchen, waren sämtliche Spezialfärbungen, ähnlich wie in der Hämatologie, auch an den durch Spontansedimentation präparierten Liquorzellen mit gutem Ergebnis durchführbar. Nicht von jeder Liquorprobe konnten die Zellen mit allen hier verwendeten Methoden gefärbt werden, da für jede Färbung ein eigenes Sedimentationspräparat hergestellt werden mußte, und das Material dafür nicht immer ausreichte. Andere Präparationsmethoden, bei denen ähnlich wie in der Histologie die Zellen geschnitten werden können, sind in der liquorzytologischen Diagnostik bisher noch nicht mit Erfolg benutzt worden. Auch die vergleichbaren Untersuchungen, die im folgenden noch einzeln besprochen werden, wurden an Sedimentationspräparaten durchgeführt.
Die Zusatzfärbungen von Liquorzellen sind bisher mit 2 verschiedenen Zielrichtungen erfolgt: So haben Peiffer und Schwarze (1967, 1971) enzymochemische Untersuchungen an Liquorzellen vor allem mit dem Ziel einer sichereren Typisierung durchgeführt. Sie kamen durch vergleichende Untersuchungen an Leptomeningealzellen zu dem Ergebnis, daß die großen mononukleären Zellen des Liquors sämtlich hämatogen sind. Olischer (1971, 1972, 1976) benutzte die verschiedensten zytochemischen Färbereaktionen in Versuchen zur Differenzierung von entzündlichen Erkrankungen des Zentralnervensystems. Mit der gleichen Fragestellung haben wir unsere Untersuchungen, unter Verwendung der PAS-Reaktion, der Peroxydase, der unspezifischen Esterase, sauren Phosphatase als Spezialfärbungen durchgeführt.
Daneben wurde jedoch in jedem zytochemischen Präparat, im Vergleich zu dem routinemäßig von jeder Liquorprobe angefertigten MGG-Präparat, nach rein morphologischen Kriterien (Größe und Form von Zelle und Zellkern) eine Zelltypisierung versucht, und die einzelnen Zellarten wurden getrennt als negativ, schwach positiv, stark positiv aufgeführt (Abb. 1 - 16). Unsere Ergebnisse stimmen insofern mit denen von Olischer überein, als

die einzelnen Zelltypen bei verschiedenen Krankheitsbildern sehr unterschiedliche zytochemische Eigenschaften zeigten. Generell kann man jedoch, unabhängig vom Krankheitsbild, davon ausgehen, daß polymorphkernige Leukozyten im allgemeinen peroxydasepositiv sind (Peiffer und Schwarze 1971), meist eine positive PAS-Reaktion zeigen (Olischer 1972), sehr selten eine positive Reaktion in der sauren Phosphatase zeigen, wie in unserem Material bei viralen Enzephalitiden und bei Rabies (Abb. 5 und 6) und in der unspezifischen Esterase immer negativ sind (Peiffer und Schwarze 1971). Lymphozyten zeigten im Gegensatz zu den Befunden von Peiffer und Schwarze, aber in Übereinstimmung mit Olischer (1971), bei entzündlichen Erkrankungen wie auch bei unspezifischen Reizsyndromen schwach positive Aktivitäten in der unspezifischen Esterase-Reaktion. Wie Olischer (1971) fanden wir sowohl ein fein-granulär homogen angefärbtes Zytoplasma wie auch - etwas häufiger - die Anfärbung einzelner tiefbrauner gröberer Granula. Erstmals wurde in dieser Arbeit auch die Aktivität der sauren Phosphatase von Lymphozyten bei entzündlichen Erkrankungen und bei unspezifischen Pleozytosen untersucht. Bei einer Reihe von entzündlichen Erkrankungen konnten SP-positive Lymphozyten nachgewiesen werden. In der Peroxydase-Reaktion waren die Lymphozyten immer negativ. PAS-positive Granula fanden sich zumeist in niedrigen Anteilen von Lymphozyten bei verschiedenen entzündlichen Prozessen, nicht dagegen bei unspezifischer Reizpleozytose. Plasmazellen, die in der Untersuchung von Peiffer und Schwarze (1971) nicht vorkamen, waren fast in der Mehrzahl der von uns untersuchten Proben vorhanden, wobei die typische, aus der Hämatologie bekannte Zellform, mit kleinem, exzentrisch rundem oder ovalem Kern mit Radspeichen-Struktur nur sehr selten gefunden wurde. Häufiger war eine schollige Chromatinstruktur eines eher etwas größeren Kerns mit Vorhandensein von Nukleoli. In der MGG-Färbung war das basophile Zytoplasma mit perinukleärer Aufhellungszone besonders auffällig. Vorwiegend waren in unserem Material sogenannte unreife Plasmazellen nachzuweisen, wie sie im allgemeinen in der Literatur beschrieben werden (Péter 1967, Oehmichen 1976). Die überwiegende Mehrheit der Plasmazellen zeigte keine positive Aktivität von unspezifischer Esterase und saurer Phosphatase-Reaktion. Die fehlende Anfärbbarkeit in diesen Reaktionen ist jedoch nicht differentialdiagnostisch

in der Unterscheidung von anderen mononukleären Zellformen zu verwerten, da bei einigen entzündlichen Krankheitsbildern und auch bei unspezifischen Reizpleozytosen durchaus positive Reaktionen von Plasmazellen nachzuweisen waren. Einige Autoren haben die Pyroninophilie von Lymphozyten und Plasmazellen als Kriterium für das Vorliegen von entzündlichen oder neuroimmunologischen Erkrankungen beschrieben (Schlote und Roos 1974; Olischer 1976). Diese Reaktion wurde in unserer Untersuchung nicht verwendet. Die positive PAS-Reaktion in Lymphozyten und noch deutlicher in Plasmazellen, nicht nachweisbar bei unspezifischen Reizpleozytosen, war jedoch bei einigen Meningitiden als morphologischer Hinweis auf eine möglicherweise gesteigerte Antikörper-Produktion zu werten. Péter (1967) beschrieb PAS-positive Einschlüsse in lymphozytär/plasmozytären Zellen als degeneratives Zeichen, die Zellen seien nicht mehr in der Lage, das intracellulär produzierte Material zu sezernieren. In der MGG-Färbung sollen Vakuolen im Zytoplasma die Synthese von Antikörpern signalisieren (Kölmel 1978).
Zellen des mononukleären Phagozytose-Systems wurden von uns nach morphologischen Kriterien als Monozyten und Histiozyten unterschieden. In der letzten Gruppe faßten wir auch alle Makrophagen, unabhängig von dem phagozytierten Material, zusammen. Beide verwandte Zellarten sollen in der unspezifischen Esterase, wie in der sauren Phosphatase-Reaktion positiv reagieren (Peiffer und Schwarze 1971). Olischer (1971) beschrieb eine Steigerung der unspezifischen Esterase-Aktivität bei den Zellen, die an lokalen Abraumprozessen beteiligt sind, sowohl bei entzündlichen Erkrankungen wie auch bei unspezifischen Reizsyndromen. In fast allen Kollektiven unseres Untersuchungsmaterials war ein hoher Anteil der monozytären und histiozytären Zellen in diesen beiden Reaktionen angefärbt dargestellt. Auffällig waren besonders starke Enzymaktivitäten von EST und SP vor allem bei den histiozytären Formen, die phagozytiertes Material enthielten. Die von Scholz und Summer (1970) beschriebenen Peroxydase-Aktivitäten von Monozyten und Makrophagen konnten in unserem Material nicht in der gleichen Abhängigkeit vom Krankheitsstadium nachgewiesen werden. Peroxydase-positive Monozyten fanden sich bei akuter bakterieller Meningitis (Abb. 13) und schwach Peroxydase-positive Histiozyten bei tuberkulöser Meningitis (Abb. 11). Häufiger als die Peroxydase-Reaktion war die

PAS-Reaktion in monozytären wie auch in histiozytären Zellen nachweisbar. Meist handelte es sich um schwach positive Reaktionen.

Zielgruppe unserer Untersuchungen waren verschiedenartige entzündliche Erkrankungen des Zentralnervensystems. Dabei sollte zunächst untersucht werden, ob die Erkrankungen oder bestimmte Phasen der entzündlichen Prozesse charakteristische Befunde aufweisen, wie sie zum Teil von Olischer (1971, 1972, 1976) postuliert wurden.

Akut verlaufende lymphozytäre Meningitiden mit gesicherter oder wahrscheinlicher viraler Genese (Abb. 1 - 4, Abb. 17, Kolumnen 1 - 4) wurden in verschiedenen Phasen der Erkrankung untersucht. Dabei zeigte sich schon in den routinemäßig angefertigten MGG-Präparaten, daß die Verteilung der Zelltypen und nicht die absolute Zellzahl der Liquorprobe charakteristisch für das jeweilige Krankheitsstadium ist (vgl. Abb. 17, Kolumnen 1 und 2). Die zytochemischen Färbereaktionen (EST, SP, PAS) unterscheiden sich bei polymorphkernigen Leukozyten, Lymphozyten und Plasmazellen in Abb. 1 und 2 nur unwesentlich. In beiden Stadien der Erkrankungen sind sämtliche polymorphonukleären Leukozyten schwach PAS-positiv. Bei dem Vergleich der Esterase- und saure Phosphatase-Aktivität von Monozyten und Histiozyten in beiden Kollektiven, läßt sich keine Gesetzmäßigkeit erkennen; auffällig ist in dem akut/subakuten Stadium lediglich eine Zunahme der PAS-Anfärbbarkeit der Monozyten. In dem sowohl klinisch wie auch nach dem Liquorbefund als eindeutig subakut anzusehenden Stadium der Erkrankungen, nimmt die saure Phosphatase-Aktivität aller Zellformen deutlich ab; lediglich die Histiozyten sind noch zu einem etwa gleich hohen Prozentsatz stark angefärbt. In der unspezifischen Esterase sind die Aktivitäten noch etwa gleich hoch, lediglich die Verteilung stark positiver gegenüber schwach positiven Histiozyten nimmt ab. Im abklingenden Stadium der lymphozytären Meningitiden (Abb. 4) sind die Lymphozyten und Plasmazellen in den Enzym-Aktivitäten immer noch gleichartig dargestellt. Unabhängig von der Verteilung in schwach und stark positive Anteile, nimmt die EST- und SP-Aktivität der monozytären und histiozytären Zellen insgesamt zu, was als Beteiligung an den "Abraumprozessen" (Olischer 1971, 1976) gedeutet werden kann.

Die akuten viralen Enzephalitiden (Abb. 5, Abb. 17, Kolumne5)

unterscheiden sich nach der Verteilung der Zelltypen von den ebenfalls viral bedingten Meningitiden, vorwiegend durch einen höheren Anteil von polymorphkernigen Leukozyten. Die Gesamtzellzahl ist immer wesentlich niedriger als bei den Meningitiden. Auffälligster Befund im Unterschied zu den lymphozytären Meningitiden ist die starke Anfärbbarkeit der polymorphkernigen Leukozyten in der PAS-Reaktion und sogar ein kleiner Anteil von SP-positiven Zellen dieser Population. Lymphozyten und Plasmazellen verhalten sich in der EST- und SP-Reaktion ähnlich wie bei den oben angeführten entzündlichen Prozessen. Stärker positiv ist die EST-Reaktion der Monozyten und Histiozyten, auch die PAS-Anfärbbarkeit der Histiozyten in diesem Material.

Einen besonderen Einzelfall in unserem Untersuchungsmaterial stellt die Liquorprobe einer menschlichen Tollwuterkrankung dar. Bei den untersuchten Enzymaktivitäten von unspezifischer Esterase und saurer Phopphatase waren vor allem die starken Anfärbungen der monozytären und histiozytären Formen auffällig, außerdem die in der Esterase insgesamt schwach positiven Plasmazellen. Die Pleozytose bei Tollwut tritt im allgemeinen, wie auch in unserem Fall, erst in einem sehr fortgeschrittenen Stadium der Erkrankung auf. Es ist nicht bekannt, auch durch unsere Färbungen nicht zu klären, ob hier vorwiegend neuroimmunologische oder Abbauprozesse eine Rolle spielen. Die schon morphologisch auffälligen, zum Teil zweikernigen Plasmazellen lassen eher auf eine Immunantwort schließen.

Bei den schubförmig verlaufenden Krankheitsfällen von Multipler Sklerose fanden wir in der Routinefärbung in Übereinstimmung mit der Literatur (Oehmichen 1976) einen konatanten, aber niedrigen Prozentsatz von Plasmazellen. Auffällig war ein hoher Anteil von schwach SP-positiven Zellen. Die monozytären und histiozytären Formen sind im allgemeinen bei dieser Erkrankung zurückgedrängt (Schlote und Roos 1974). Dies traf für unser Untersuchungsmaterial nur eingeschränkt zu. Die Enzymaktivitäten von EST- und SP in diesen beiden Zellformen waren zu einem etwas geringeren Anteil stark positiv nachweisbar, als bei den anderen entzündlichen Erkrankungen. Die wenigen polymorphonukleären Zellen waren sämtlich PAS-positiv und zur Hälfte sogar stark positiv. Dies läßt darauf schließen, daß sie erst in dem akuten Schub der Erkrankung in den Liquor

eingeschwemmt wurden und daher noch wenig, wie dies auch morphologisch erkennbar war, degenerativ verändert waren. Vergleichbar sind die Befunde bei viraler Enzephalitis (s.o.) und tuberkulöser Meningitis (s.u.). Bei den abklingenden lymphozytären Meningitiden, die eingangs diskutiert wurden, hatten die polymorphkernigen Leukozyten dagegen deutlich geringere PAS-Anfärbbarkeit.

Eine besondere Gruppe stellen die sogenannten chronisch proliferativen lymphozytären und plasmozytären Meningitiden ohne Nachweis einer Erregerpersistenz dar, von denen wir Liquorproben nach z. T. viele Jahre umfassender Langzeitbeobachtung gewannen. Die zu einem geringen Anteil vorhandenen polymorphkernigen Leukozyten waren sämtlich stark PAS-positiv. Stärker als bei den akuten lymphozytären Meningitiden, fanden sich SP-Anfärbungen von Lymphozyten und Plasmazellen. Monozyten und Histiozyten waren deutlich stärker in der EST-Reaktion als in der SP-Reaktion angefärbt. PAS-positives Material fand sich zu unterschiedlichen Anteilen in allen vorhandenen mononukleären Zellen.

Bei einer ebenfalls chronisch verlaufenen Entzündung, einem Fall von Lues cerebrospinalis, war die insgesamt niedrige Enzym-Aktivität in der SP-Reaktion von Monozyten und Histiozyten nachzuweisen. Hier fehlen für eine Verifizierung des Befundes weitere Liquorproben der selben Erkrankung. Zudem erscheint eine einzige zusätzlich durchgeführte Färbereaktion, wie an diesem Beispiel demonstriert werden kann, diagnostisch wenig relevant zu sein.

Von entscheidender klinischer Bedeutung wäre eine liquorzytologische Differenzierung von tuberkulösen Meningitiden gegenüber anderen entzündlichen Prozessen. In der Routinefärbung auffällig ist vor allem im akuten Stadium der hohe Anteil von polymorphkernigen Zellen, die durch die PAS-Reaktion zum größten Teil herausgestellt wurden. Ein hoher Anteil von polymorphkernigen Zellen im Liquor-Differentialzellbild schließt also eine tuberkulöse Meningitis keineswegs aus. Beweisend ist eher ein bunt gemischtes Zellbild, wie dies erst in neueren Lehrbüchern (Oehmichen 1976, Kölmel 1978) eindeutig beschrieben wird. Schmidt (1968) hatte darauf hingewiesen, daß im Verlauf von tuberkulösen Meningitiden der Wiederanstieg der polymorphkernigen Zellen, als Anzeichen eines schrittweisen Befalls des

Liquorraums zu deuten sind. In der Peroxydase-Reaktion waren die polymorphkernigen Zellen im akut/subakuten Stadium der Erkrankung mit 27 % schwach positiven Zellen wesentlich weniger auffällig als etwa bei akuter bakterieller Meningitis (s.u.). Esterase-positive Plasmazellen wurden im Übergang zum subakuten Stadium beobachtet. Monozyten und Histiozyten waren, wenn vorhanden, bei der tuberkulösen Meningitis im allgemeinen sehr stark positiv, sowohl bei Esterase wie bei saurer Phosphatase (Abb. 11 und 12). Die PAS-Reaktion war in den mononukleären Zellen in zum Teil hohen Prozentsätzen schwach positiv.

Bakterielle Meningitiden wurden im akuten/subakuten und im Reparationsstadium untersucht. Die vorwiegend vorhandenen polymorphkernigen Zellen färbten sich sowohl in der PAS- wie in der Peroxydase-Reaktion stark an. Lymphozyten und Plasmazellen zeigten soweit vorhanden, im akuten und subakuten Stadium nur geringe Enzym-Aktivitäten. Im Reparationsstadium war ein hoher Anteil der Plasmazellen Esterase-positiv, die SP-Reaktion blieb negativ. Peroxydase-positive Monozyten konnten in Übereinstimmung mit Scholz und Summer im akuten Stadium nachgewiesen werden, die Histiozyten waren dagegen negativ. Auffällig hoch sind die Esterase- und saure Phosphatase-Aktivitäten der Histiozyten in allen Stadien der Erkrankung; dies könnte die Hypothese der Abraumprozesse von Olischer (1971) stützen. Bei der bakteriellen Meningitis dürften die zytochemischen Zusatzfärbungen keinerlei diagnostische Relevanz haben, da aus der Zellzahl und dem Differentialzellbild der Routinefärbungen und gelegentlich sogar aus den in Präparaten vorhandenen Bakterien, die Diagnose mit genügender Eindeutigkeit gestellt werden kann.

Als Kontrollkollektiv gegenüber den im einzelnen angeführten entzündlichen Erkrankungen, verwerteten wir Proben von unterschiedlichen klinischen Syndromen, bei denen als einziges gemeinsames Merkmal eine mäßige Pleozytose vorlag. Polymorphkernige Leukozyten waren in diesem Material nicht vorhanden. Das Differentialzellbild wurde etwa zur Hälfte von Lymphozyten gebildet, die sämtlich PAS-negativ waren und nur vereinzelt schwach positive EST- oder SP-Aktivität aufwiesen. Auffälligerweise gab es auch in diesem Material Plasmazellen, was die diagnostische Wertigkeit im Multiple-Sklerose-Liquor

(s.o.) durchaus einschränken dürfte. Die Plasmazellen zeigten zu 5 % stark, zu 10 % schwach positive Esterase-Aktivität, waren jedoch nach unseren morphologischen Kriterien eindeutig von Monozyten zu unterscheiden gewesen. Monozyten und Histiozyten stellten sich schwächer als bei vielen entzündlichen Prozessen in den EST- und SP-Reaktionen dar, zeigten auch nur schwache PAS-positive Anfärbungen. Als Kontrollkollektiv gegenüber den entzündlichen Erkrankungen wäre noch eine größere Anzahl von anderen unspezifischen Reizsyndromen wünschenswert gewesen, etwa postoperativ gewonnene Liquorproben.
Andere inzwischen in die Liquordiagnostik eingeführte zytochemische Reaktionen, wie etwa die NBT-Reaktion (Kölmel 1978) standen uns im Untersuchungszeitraum noch nicht zur Verfügung.

Aus den nach Krankheitsbildern geordneten Untersuchungsbefunden läßt sich durchaus auf verschiedenartig ablaufende Prozesse,(siehe Vergleich zw. lymphozytärer Meningitis und viraler Enzephalitis), wie auch auf verschiedene Phasen der entzündlichen Erkrankungen (Verlauf der bakteriellen Meningitis) schließen. Auch ohne die Anwendung spezifischer immunologischer Methoden kann teilweise auf eine Immunantwort von Lymphozyten und Plasmazellen (PAS-Färbung) gedeutet werden. Die hohen Enzymaktivitäten von Esterase und saurer Phosphatase in den monozytär-histiozytären Zellformen bei Abraumprozessen in subakuten und Reparationsstadien der Entzündungen, ist wohl das auffälligste Merkmal in unseren Spezialfärbungen gewesen, vor allem bei Betrachtung der einzelnen Zellen, die phagozytiertes Material enthielten. Die klinisch-diagnostische Wertigkeit der Methoden würden wir jedoch, im Gegensatz zu Olischer (1971, 1972, 1976), eher geringer bewerten. Die Methoden sind in der Routineuntersuchung des Liquors zu aufwendig und zeitraubend und verlangen zudem Übung und Erfahrung. Außerdem muß die Verarbeitung des Liquors zumindest bis zur Fixierung sofort nach Probenentnahme geschehen. Eine Kühlung der Liquorprobe vor und während der Verarbeitung, die wir in unseren Vorversuchen erprobten, erwies sich dagegen nicht als notwendig.
Bei der Betrachtung der einzelnen Krankheitsgruppen ergeben sich zwar charakteristische, diagnostisch jedoch in keinem Fall einzigartige und ohne Zuhilfenahme weiterer klinischer oder

klinisch-chemischer Befunde verwertbare Kriterien.
In Übereinstimmung mit Olischer (1976), und eher im Gegensatz zu Peiffer und Schwarze (1971), geht dagegen aus unseren Untersuchungsbefunden hervor, daß die zytochemische Charakterisierung der Zellen keineswegs allein von der Zuordnung zu einem bestimmten Typ abhängig ist, sondern eher von dem jeweiligen Krankheitsprozess oder sogar dem Stadium der Erkrankung bestimmt wird. Dies wäre vor allem bei experimentellen, etwa immunologischen Untersuchungen zu beachten, für die sich die zytochemischen Färbereaktionen durchaus eignen. Vorstellbar ist auch eine Anwendung der Methoden in weiteren Untersuchungen, etwa zur Verlaufskontrolle der chronisch-proliferativen Meningitiden oder der Krankheitsaktivität von Multipler Sklerose. Über beide Krankheitsgruppen liegen noch keine anderen derartigen Untersuchungen vor.
Domäne der zytochemischen Färbereaktionen von Liquorzellen dürften weiterhin die in dieser Arbeit nicht untersuchten leukämischen Erkrankungen bleiben. Auch hier ist die klinische Diagnose im allgemeinen nicht von dem Ergebnis der Zusatzuntersuchungen abhängig. Bei der Diagnose einer Meningosis neoplastica bei Lymphoblastenleukämie durch PAS-Färbung (Möbius et. al., 1971, Oehmichen 1976, Kölmel 1978) sind jedoch die in dieser Arbeit vorgestellten Ergebnisse von PAS-Färbungen bei sämtlichen Erkrankungen zu beachten.

5. ZUSAMMENFASSUNG

Liquorproben wurden zytologisch mit May-Grünwald-Giemsa gefärbten Sedimentationskammer-Präparaten differenziert. Unter Anwendung von zytochemischen Färbereaktionen, unspezifische Esterase, saure Phosphatase, Peroxydase, PAS, sollte versucht werden, 1. die Typen sicherer zu differenzieren, 2. charakteristische zytochemische Muster für bestimmte Erkrankungen oder Erkrankungsphasen zu erarbeiten. Zielgruppe der Untersuchungen waren verschiedenartige entzündliche Erkrankungen des Zentralnervensystems. Polymorphkernige Leukozyten im Liquor sind mit der PAS-Reaktion und der Peroxydase überwiegend anzufärben, gelegentlich auch zu einem kleinen Anteil mit der sauren Phosphatase, wobei sich erhebliche Unterschiede in der Anfärbbarkeit bei den verschiedenen untersuchten Probenkollektiven ergaben. Die Mehrzahl der Lymphozyten im gesamten Untersuchungsmaterial zeigte keine Reaktion in der Mehrzahl der Spezialfärbungen, mit Ausnahme der PAS- oder Esterase-positiven Granula und ganz vereinzelt schwach positiver saurer Phosphatase-Reaktion. Für die Plasmazellen ergab sich insgesamt ein sehr unterschiedliches Verhalten in den zytochemischen Reaktionen. Lymphozyten wie Plasmazellen zeigten nie eine positive Peroxydase-Reaktion. Charakteristisch für Monozyten und Histiozyten war die überwiegend positive Enzymreaktion von unspezifischer Esterase und saurer Phosphatase, vereinzelt auch in geringerer Aktivität der Peroxydase. PAS-positives Material konnte unterschiedlich in beiden Formen nachgewiesen werden. In Abhängigkeit von Erkrankungen bzw. Erkrankungsstadien fand sich eine hohe Enzymaktivität der polymorphkernigen Leukozyten, sowohl bei bakterieller wie bei tuberkulöser Meningitis, als auch in den zahlenmäßig wesentlich geringer vertretenen polymorphkernigen Leukozyten in den Proben von viralen Enzephalitiden, im Gegensatz zu den schwächer aktiven gleichen Zellformen bei viralen Meningitiden. Auffälligstes Einzelergebnis waren die starken zytochemischen Färbereaktionen aller vorhandenen Zelltypen im Rabies-Liquor. Liquorproben aus akuten Schüben von Multipler Sklerose ähneln im zytochemischen Muster anderen entzündlichen Erkrankungen und sind durch eindeutige Kriterien charakterisiert. Insgesamt sind die Erkrankungsstadien entzündlicher Prozesse gegeneinander mit den

verwendeten Methoden besser zu differenzieren, als die ätiologisch unterschiedlichen Erkrankungen untereinander. Die zytochemischen Färbereaktionen sind nur bedingt für die klinische Routinediagnostik, eher dagegen für pathogenetische Untersuchungen und Verlaufsbeobachtungen geeignet.

6. LITERATURVERZEICHNIS

1. BAMMER, H.: Zur Tumorzelldiagnostik im Liquor cerebrospinalis. Dtsch. f. Nervenheilkunde 185: 89, 1963.

2. KÖLMEL, H. W.: Liquor-Zytologie. Springer-Verlag, Berlin, 1978

3. MÖBIUS, W., HELLRIEGEL, K. P., TERHEGGEN, H. G.: Die Bedeutung der Liquorzytologie bei Hämoblastosen. Med. Welt 22: 654, 1971.

4. OEHMICHEN, M.: Cerebrospinal Fluid Cytology. Thieme-Verlag, Stuttgart, 1976.

5. OLISCHER, R. M.: Der Nachweis der unspezifischen Esterase in Liquorzellen. Eine zytodiagnostische Zusatzuntersuchung. Z. Neurol. 200: 61, 1971.

6. OLISCHER, R. M.: Reaktionen mononukleärer Zellen im Liquor cerebrospinalis. Wien. Z. Nervenheilk. 30: 261, 1972.

7. OLISCHER, R. M.: Die PAS-Reaktion in der Zytodiagnostik des Liquor cerebrospinalis. Psychiat. Neurol. med. Psychol. (LPZ). 24: 716, 1972.

8. OLISCHER, R. M.: Zytochemische Liquordiagnostik. Europäischer Kongreß für Zytologie, Weimar, 1976.

9. PÉTER, A.: The plasma cells of the cerebrospinal fluid. J. neurol. Sci. 4: 227, 1967.

10. PEIFFER, J. und SCHWARZE, E. W.: Beitrag zur Enzymhistochemie der Liquor- und Leptomeningealzellen. Nervenarzt 42, 267, 1971.

11. SAYK, J.: Ergebnisse neuer liquor-zytologischer Untersuchungen mit dem Sedimentationskammer-Verfahren. Ärzt. Wschr. 9: 1042, 1954.

12. SCHLOTE, W. und ROOS, W.: Gibt es ein charakteristisches Liquorzellbild bei multipler Sklerose? Beitrag zur Bedeutung der großen pyroninophilen Rundzellen im Liquor cerebrospinalis. Nervenarzt 45; 576, 1974.

13. SCHMIDT, R. M.: Der Liquor cerebrospinalis. VEB Verlag Volk und Gesundheit. Berlin, 1968.

14. SCHOLZ, H. und SUMMER, K.: Klinisch-diagnostischer Wert liquorzytologischer Befunde bei Entzündungen der Meningen. Wien. Z. Nervenheilk. 28: 283, 1970.

15. SCHWARZE, E. W.: Zur Differenzierung der im Liquor cerebrospinalis des Menschen anzutreffenden Zellelemente. Diss. Tübingen 1967.

16. SCHWARZE, E. W.: Zytomorphologischer Vergleich der "kleinen und großen Rundzellen" des Liquor cerebrospinalis mit Lymphozyten des peripheren Blutes. Verh. dtsch. Ges. Path. 57: 262, 1973.

L E B E N S L A U F

Am 13. März 1936 wurde ich in Deesen /Westerwald als Sohn der Eheleute Anton Henkes, Zimmermann, und seiner Ehefrau Anna, geb. Trumm geboren. Von September 1942 bis August 1946 besuchte ich die Volksschule in meinem Geburtsort und wechselte dann zum Kaiser-Wilhelm-Gymnasium in Montabaur über. Diese Schule verließ ich im Frühjahr 1951 und besuchte ab Herbst des gleichen Jahres die Zweijährige Handelsschule in Neuwied /Rhein. Nach der Abschlußprüfung im Herbst 1953, begann ich am 1. April 1954 eine Lehre als Industriekaufmann bei den Stahl- und Walzwerken Rasselstein /Andernach AG. in Neuwied und legte die Kaufmannsgehilfenprüfung nach 2 1/2 Jahren Lehrzeit im September 1956 ab. Anschließend arbeitete ich noch 6 Monate bei meiner Lehrfirma und erhielt durch deren Vermittlung die Möglichkeit, meine Sprachkenntnisse in Frankreich (Paris) zu vervollständigen. Dort arbeitete ich von April 1957 bis Februar 1961, besuchte zunächst Abendkurse an der Alliance Française und später als Gasthörer philosophische Vorlesungen an der Sorbonne. Nach meiner Rückkehr arbeitete ich bei einer Keramikfabrik in Baumbach/Westerwald, um das Geld für den Studienaufenthalt in Spanien (Salamanca) zu verdienen. Dort studierte ich von Mai 1962 bis Juli 1963 an der Philosophischen Fakultät. (Abschluß mit Diplomado en Estudios Hispánicos). Nach Deutschland zurückgekehrt, war ich für ein Jahr als Kraftfahrer tätig und anschließend (von 1964 bis 1968) als Übersetzer und Dolmetscher bei der Druckmaschinenfabrik Koenig & Bauer in Würzburg. Während dieser Zeit besuchte ich das Abendgymnasium für Berufstätige in Würzburg und legte im Juli 1968 die Reifeprüfung ab. Im Wintersemester des gleichen Jahres begann ich das Medizinstudium an der Julius-Maximilians-Universität Würzburg und bestand dort das Staatsexamen im August 1976. Während meiner Medizinalassistentenzeit arbeitete ich am Kreiskrankenhaus Haßfurt; Die Approbationsurkunde wurde mir im September 1977 zugestellt. Seit 1. Oktober 1977 befinde ich mich zur Facharztausbildung in der chirurgischen Abteilung des Städtischen Krankenhauses Schweinfurt-

Sennfeld, den 15. September 1978

Werner Henkes